

UNIVERZITET U BEOGRADU

FARMACEUTSKI FAKULTET

Milica T. Zeković

**Validacija upitnika za procenu dijetarnog unosa folata i
analiza znanja, stavova i prakse farmaceutskog tima u vezi
sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom
unosu ovog nutrijenta**

Doktorska disertacija

Beograd, 2018.

UNIVERSITY OF BELGRADE

FACULTY OF PHARMACY

Milica T. Zeković

**Validation of a questionnaire for folate dietary intake
assessment and analysis of knowledge, attitudes and
practice of pharmacy team members with regards to
counseling women of reproductive age on adequate folate
intake**

Doctoral Dissertation

Belgrade, 2018

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije

Dr sc. Dušanka Krajnović, mentor rada, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu-Farmaceutski fakultet,
Katedra za socijalnu farmaciju i farmaceutsko zakonodavstvo

Dr sc. med. Mirjana Gurinović, mentor rada, naučni savetnik,
Univerzitet u Beogradu – Institut za medicinska istraživanja,
Centar izuzetne vrednosti za istraživanja u oblasti ishrane i metabolizma

Dr sc. Marija Glibetić, naučni savetnik,
Univerzitet u Beogradu – Institut za medicinska istraživanja,
Centar izuzetne vrednosti za istraživanja u oblasti ishrane i metabolizma

Dr sc. Valentina Marinković, vanredni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet,
Katedra za socijalnu farmaciju i farmaceutsko zakonodavstvo

Dr sc. Ljiljana Tasić, redovni profesor,
Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet,
Katedra za socijalnu farmaciju i farmaceutsko zakonodavstvo

Datum odbrane doktorske disertacije:_____

Ova teza je realizovana u okviru saradnje Katedre za socijalnu farmaciju i farmaceutsko zakonodavstvo Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Centra izuzetne vrednosti za istraživanja u oblasti ishrane i metabolizma Instituta za medicinska istraživanja Univerziteta u Beogradu, i deo je projekta Ministarstva prosvete nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Biološki mehanizmi, nutritivni unos i status polinezasićenih masnih kiselina i folata: Unapređenje ishrane u Srbiji“ (evidencioni br. III 41030).



Najiskrenije se zahvaljujem:

Mentorima, Dr sc. Dušanki Krajnović i Dr sc. med. Mirjani Gurinović na nesebičnoj stručnoj pomoći, usmeravanju, dragocenim sugestijama, razumevanju i izuzetnoj podršci koju su mi pružile tokom rada na disertaciji

Dr sc. Mariji Glibetić, na pruženoj prilici i ukazanom poverenju, mudrim i dobronamernim savetima i neiscrpoj naučnoj inspiraciji

Članicama Komisije, Dr sc. Valentini Marinković i Dr sc. Ljiljani Tasić na izuzetnoj profesionalnoj saradnji i svesrdnoj podršci

Svim ispitanicima na izdvojenom vremenu, strpljenju i poverenju

Kolegama i dragim prijateljima na podršci, motivaciji i iskrenim rečima ohrabrenja

Najviše, porodici, čija vera je srž moje istrajnosti, i čija je beskrajna ljubav utkana u svaki moj uspeh i osmeh

Validacija upitnika za procenu dijetarnog unosa folata i analiza znanja, stavova i prakse farmaceutskog tima u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu ovog nutrijenta

Rezime

Nutritivne deficijencije prepoznate su kao jedan od glavnih preventabilnih faktora rizika za nastanak kongenitalnih anomalija i drugih neželjenih ishoda trudnoće. Naučni napredak u oblasti etiopatogeneze kongenitalnih anomalija doveo je do zaključka da je optimalno izbalansirana ishrana majki uz adekvatan unos makro i mikronutrijenata izuzetno važna za obezbeđivanje normalnog embrionalnog razvoja. Zaštitni efekat perikonceptijske primene suplemenata folne kiseline u redukciji rizika od nastanka i rekurencije defekata nervne cevi naučno je potvrđen mnogim obzervacionim i interventnim studijama. Folati učestvuju kao koenzimi u transferu monougljeničnih grupa u reakcijama metabolizma aminokiselina i sintezi i reparaciji nukleinskih kiselina, pa je uloga ovog hidrosolubilnog B₉ vitamina posebno značajna za uspešno odvijanje intenzivne ćelijske deobe i proliferacije tokom embriogeneze. Ipak, uprkos postignutom naučnom konsenzusu o koristima folne kiseline u obezbeđivanju zdravog potomstva i činjenici da su mnoga regulatorna tela u oblasti zdravlja izdala preporuke o primeni folne kiseline u periodu planiranja začeca i ranim fazama trudnoće, studije ukazuju da je među ženama reproduktivne dobi unos ovog esencijalnog nutrijenta i dalje suboptimalan. Na varijabilnost situacije u različitim zemljama utiče niz faktora kao što su: stepen obaveštenosti žena o merama prevencije defekata nervne cevi, postojanje, primena i obuhvat strategija za unapređenje unosa i statusa folata u ciljnoj populacionoj grupi, dostupnost i priuštivost suplemenata folne kiseline i konačno, izloženost stanovništva namirnicama koje su fortifikovane ovim vitaminom.

Procena nutritivnog statusa danas je prepoznata kao važan deo zdravstvene nege na individualnom i populacionom nivou. Prvi korak u suočavanju sa izazovom ostvarivanja adekvatnog unosa folata kao esencijalnih nutrijenata je pouzdana i objektivna procena nutritivnog statusa zasnovana na primeni standardizovanih, validiranih instrumenata, koji su prilagođeni specifičnim karakteristikama populacije od interesa. Iz toga je proistekao prvi cilj ove doktorske disertacije – razvoj i evaluacija validnosti Upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji (F-FFQ). U razvoju upitnika primenjena je kombinacija validiranog upitnika za procenu unosa folata iz Republike Hrvatske i NCI/ Block Health Habits and History Questionnaire uz dodatnu adaptaciju odnosno dopunu lokalno dostupnim namirnicama i tradicionalnim jelima iz Srbije. Analizu pregledne (eng. *face validity*) i

sadržajne validnosti (eng. *content validity*) upitnika sproveda je grupa eksperata iz Centra izuzetne vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma Instituta za medicinska istraživanja, Univerziteta u Beogradu. Nakon što su stručnjaci potvrdili saglasnost sa predloženom strukturom i sadržajem, upitnik je testiran u okviru pilot-studije na 20 ispitanica (žena reproduktivne dobi) koje nisu bile deo uzorka glavne studije. Cilj pilot-studije bila je kontrola i unapređenja jasnoće, preglednosti i formata upitnika. Validnost instrumenta F-FFQ procenjena je u odnosu na referentni metod (ponovljene dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane) i biomarkere statusa folata (koncentracija folata u serumu i eritrocitima) primenom metode trijade. Odobrenje za sprovođenje studije dao je Etički komitet Instituta za medicinska istraživanja (br. EO112/2015).

U okviru studije preseka, koja je sprovedena tokom perioda od godinu dana – od juna 2014. do jula 2015. godine, 503 žene starosti 18-49 godina ($\bar{x}=34.09\pm 10.72$) ispunilo je dijetarne upitnike (F-FFQ i tri 24h ankete ishrane), a na nivou reprezentativnog poduzorka (n=50) analizirani su i biohemijski pokazatelji statusa folata iz uzorka venske periferne krvi. Procenjeni dnevni unos folata iznosio je 206.2 ± 61.3 $\mu\text{g DFE}$ i 211.0 ± 111.0 $\mu\text{g DFE}$ na osnovu F-FFQ-a i tri 24h ankete ishrane, redom. Samo 6.16% i 6.76% ispitanica je dostiglo nivo procenjenih prosečnih potreba (Estimated Average Requirements–EAR $320 \mu\text{g DFE/day}$), a 96.22% i 93.64% je imalo unos folata ispod preporučenog unosa ovog nutrijenta (Recommended Nutrient Intake–RNI; $400\mu\text{g/day}$) na osnovu ponovljenih 24h anketa ishrane i F-FFQ-a, redom. Koeficijent korelacije između vrednosti unosa procenjenih primenom navedenih dijetarnih metoda iznosio je $r = 0.56$ ($p < 0.001$) za ukupan uzorak, odnosno $r = 0.57$ ($p < 0.001$) za validacionu podgrupu. Bland-Altman grafovi i analiza unakrsne klasifikacije ukazali su na visok stepen slaganja između ispitivane i referentne metode. Srednja vrednost koncentracije folata u serumu kod ispitanica je iznosila 12.29 ± 6.59 nmol/L , a u eritrocitima 438.66 ± 144.63 nmol/L . Bez obzira na to koji je biohemijski indikator uvršten u kalkulaciju, poređenje F-FFQ-a sa 24h anketama ishrane i biomarkerima statusa folata u okviru metode trijade rezultovalo je visokim koeficijentima validacije ($\rho_{\text{QIser}}=0.814$, $\rho_{\text{QIrbc}}=0.871$). Uski 95% intervali pouzdanosti i izostanak Heywood slučajeva potvrdili su adekvatnost veličine uzorka i odstustvo kršenja osnovnih pretpostavki validacionog modela. Sprovedena triangulaciona analiza je dala dragocen uvid u performanse razvijenog instrumenta i dodatno osnažila dokaze o njegovoj validnosti. F-FFQ je specifičan u odnosu na starosne, polne i geografske determinante i, prema našim saznanjima, prvi upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica koji je razvjen i validiran za procenu dijetarnog unosa folata među ženama u Republici Srbiji.

Kao dostupni i pouzdani članovi društva zdravstveni profesionalci mogu da pružanjem blagovremenih, tačnih i na dokazima zasnovanih informacija i saveta značajno doprinesu unapređenju maternalnog i zdravlja novorođenčadi. Farmaceuti i farmaceutski tehničari

zaposleni u javnim apotekama su idealno pozicionirani u zdravstvenom sistemu da promovišu perikonceptijsku suplementaciju folnom kiselinom i učestvuju u zdravstvenom prosvjećivanju žena reproduktivne dobi. Njihova ekspertiza i jedinstvena dostupnost mogu imati značajnu ulogu u obezbeđivanju što većeg obuhvata pripadnica populacije od interesa. Diseminacija zdravstveno-promotivnih poruka u vezi sa folnom kiselinom i stimulisanje žena na usvajanje preventivnih mera podržana je i od strane Međunarodne farmaceutske federacije (FIP). Da bi ostvarili pun potencijal koji kao deo zdravstvenog tima imaju, dali doprinos unapređenju zdravlja žena u reproduktivnom periodu i na adekvatan način odgovorili javnozdravstvenim potrebama društva, farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da raspolažu odgovarajućim znanjem o problematici, treba da postoji pozitivna percepcija važnosti ovih aktivnosti i motivisanost da se usluge vezane za promovisanje suplementacije folnom kiselinom uvedu u svakodnevnu radnu praksu u javnim apotekama.

U skladu sa tim, sprovedena je kvantitativna studija preseka zasnovana na primeni namenski kreiranih upitnika s ciljem ispitivanja znanja, stavova i prakse (*cross-sectional study*, *KAP- knowledge, attitudes and practice study*) farmaceuta, farmaceutskih tehničara i studenata farmacije u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata u periodu od oktobra 2015.godine do decembra 2016.godine. Studijom je obuhvaćen nacionalni stratifikovani uzorak farmaceuta i farmaceutskih tehničara zaposlenih u državnim i privatnim javnim apotekama u Srbiji. Registar Farmaceutske Komore Srbije korišćen je kao uzorački okvir, a definisane su geografske kvote prema pripadnosti redovnih članova njenim regionalnim ograncima, tako da zastupljenost ispitanika po ograncima bude saglasna aktuelnim podacima o članstvu. Učešće u studiji ponuđeno je svim farmaceutskim tehničarima i farmaceutima stažerima, koji su zaposleni u istim javnim apotekama kao i regrutovani farmaceuti. Kada je reč o studentima farmacije, istraživanje je realizovano u periodu mart – maj 2016.godine, a učešće u studiji ponuđeno je svim studentima završne godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, koji su bili prisutni na Fakultetu na dane koji su unapred definisani kalendarom regrutacije. Detaljan pregled literature, ekspertske konsultacije i pre-testiranje su primenjeni u procesu razvoja upitnika. Multidisciplinarni panel stručnjaka dao je potvrdu pregledne i sadržajne validnosti, tokom pilot studije je zadovoljio kriterijume interne konzistencije, a u okviru glavne studije afirmativno su evaluirane metrijska svojstva testa znanja i faktorska struktura skale za procenu stavova. Etički komitet za biomedicinska istraživanja Farmaceutskog fakulteta u Beogradu dao je saglasnost za sprovođenje istraživanja (br. 261/2).

Od 730 ispitanika iz javnih apoteka, 96.6% je tačno identifikovalo vrste deformiteta koji se mogu prevenirati primenom folne kiseline, a 77.0% je prepoznalo preporučenu dozu za žene sposobne da ostanu u drugom stanju. Ipak, manji udeo ispitanika je prepoznao optimalni vremenski okvir za suplementaciju (61.1%), kao i adekvatnu dozu za prevenciju rekurencije defekata nervne cevi (42.9%). Dok je 43.2% farmaceutskih tehničara izrazilo

uverenje da nije njihova obaveza da sprovede savetovanje o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija, takvo mišljenje imalo je samo 4.7% licenciranih farmaceuta i nijedan farmaceut-stažer ($\chi^2=198.287$, $df=4$, $p<0.001$). Većina učesnika studije (54.7%) je izjavila da pruža informativne konsultacije u vezi folne kiseline jednom nedeljno ili nekoliko puta mesečno, a samo 10 ispitanika je tvrdilo da to čini svakodnevno. Dodatno, na osnovu sopstvenog izveštaja, samo 36.7% ispitanika pruža savete i informacije o adekvatnom statusu folata na sopstvenu inicijativu, dok ostatak ovu temu pominje samo na zahtev pacijenta tj. reaktivno. Kritične oblasti slabe informisanosti potvrđene su i u okviru istraživanja među studentima završne godine Farmaceutskog fakulteta.

Iako su ispitanici prepoznali značaj sopstvene uloge u promociji zdravlja u prekonceptijskom periodu, rezultati istraživanja su ukazali na određene propuste u znanju i dominantno reaktivan pristup savetovanju. Kako bi se prevazišli problemi vezani za nizak nivo samoprocenjenih kompetencija i motivacije, inicirala promena savetodavnog ponašanja i unapredile aktuelne i buduće performanse farmaceutskog tima, neophodni su pažljivo kreirani, usmereni i prilagođeni edukativni programi u okviru redovnog akademskog obrazovanja i korpusa kontinuiranog profesionalnog usavršavanja.

U skladu sa tim, kreiran je edukativni program namenjen farmaceutima i farmaceutskim tehničarima zaposlenim u javnim apotekama u Republici Srbiji i sprovedena je studija intervencije uz primenu eksperimentalnog pretest-posttest dizajna sa ciljem procene njegove uspešnosti. Saglasnost za sprovođenje ovog istraživanja dao je Etički komitet za biomedicinska istraživanja Farmaceutskog fakulteta u Beogradu (br. 656/2).

Istraživanje je obuhvatilo 166 ispitanika, podeljenih u četiri stratumata prema geografskoj distribuciji tj. pripadnosti regionalnim ograncima nadležnih komora zdravstvenih radnika. Analiza podataka prikupljenih u početnoj tački studije pokazala je komparabilnost strukture ispitivanih kohorti. Bez obzira na implementirani analitički postupak, rezultati su ukazali na značajno unapređenje postignuća ispitanika iz eksperimentalne grupe na testu znanja, a svi statistički indikatori veličine efekta implicirali su veliki uticaj sprovedene edukacije. Ostvareni rezultati na naknadnom posttestu su potvrdili dobru retenciju odnosno zadržavanje stečenog znanja i značajnu razliku u odnosu na farmaceute i farmaceutske tehničare koji su bili lišeni intervencije. Za razliku od ispitanika iz kontrolne grupe, stavovi članova farmaceutskog tima koji su bili izloženi edukativnom programu statistički značajno su izmenjeni u pravcu boljeg sagledavanja zdravstvenih benefita perikonceptijske suplementacije folnom kiselnom i magnitude kongenitalnih anomalija u kontekstu kliničkih, humanističkih, i ekonomskih determinanti. Dodatno, u ovoj kohorti je intenzivirana percepcija profesionalne odgovornosti za sprovođenje zdravstvene edukacije i unapređena je spremnost suočavanja sa realnim izazovima i potencijalnim barijerama. Promene u znanju i stavovima, nedvosmisleno su

reflektovane na nivou subjektivno-opaženih kompetencija i objektivne savetodavne prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz eksperimentalne grupe kroz proaktivan pristup i veću učestalost pružanja relevantnih saveta i informacija o folatima tokom svakodnevnog rada u javnim apotekama.

Ključne reči: folati, folna kiselina, perikonceptijska nega, upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica, validacija, metod trijade, farmaceutska praksa, KAP studija, edukativna intervencija, pretest-posttest eksperimentalni dizajn sa kontrolnom grupom

Naučna oblast: Farmacija

Uža naučna oblast: Socijalna farmacija i istraživanje farmaceutske prakse

UDK broj: 615.014/07:577.164.1]-055.2(043.3)

Validation of a questionnaire for folate dietary intake assessment and analysis of knowledge, attitudes and practice of pharmacy team members with regards to counseling women of reproductive age on adequate folate intake

Summary

Nutritive deficiencies are well-recognized preventable risk factors for the development of congenital anomalies and other adverse pregnancy outcomes. Scientific progress in the comprehension of congenital anomalies has led to the conclusion that optimally balanced maternal diet with adequate intake of macro- and micronutrients can contribute to reducing the incidence of these disorders. Protective effect of the periconceptional folic acid supplementation in reducing the risk for both occurrence and recurrence of neural tube defects (NTDs) is scientifically confirmed through many observational and interventional studies. Folate derivatives are involved as coenzymes in the single-carbon units' transfer in metabolism of amino acids and synthesis and reparation of nucleic acids. Accordingly, the role of this water-soluble B₉ vitamin is of special importance for intense cell maturation, division and proliferation during embryogenesis. However, regardless the unequivocal epidemiological evidence, achieved scientific consensus on the folic acid benefits in ensuring healthy offspring, and the fact that many health authorities officially recommended the use of folic acid prior to conception and during early phases of pregnancy, numerous studies revealed suboptimal intake of this essential nutrient among women of reproductive age. The variability of the situation in different countries is affected by a number of factors such as: the awareness of women of prevention measures for NTDs; the existence, application and coverage of strategies for improving folate intake and status in the targeted population group; the availability and affordability of folic acid supplements; and finally, the population exposure to folic acid- fortified foods.

Nutritional status assessment is nowadays recognized as an important part of medical care at individual and population level. In facing the challenge of achieving folate adequacy, the first step is reliable and objective nutritional assessment performed with standardized and validated instruments adapted to specific characteristics of the population of interest. Therefore, the aim of the first study in the present doctoral dissertation was to develop and validate the Food Frequency Questionnaire for the assessment of folate intake (F-FFQ) among women of reproductive age in Serbia. The FFQ for folate (F-FFQ) was developed by combining a validated FFQ for folate in Croatia region with the NCI/Block Health Habits and History Questionnaire with further adaptation based on inclusion of folate-rich traditional foods consumed in Serbia. The F-FFQ was designed to capture habitual intake over the previous three months and was self-administered in the presence of

trained dietitians. Face and content validity of the questionnaire were assessed by an expert panel consisting of five researchers from the Center of Research Excellence in Nutrition and Metabolism in Serbia. The questionnaire was pilot tested for clarity and format improvement among 20 women of reproductive age who did not participate in the main study. The F-FFQ was tested against repeated 24 h dietary recalls and correspondent nutritional biomarkers (red blood cells (RBC) and serum folate concentrations) using the method of triads. The study protocol was approved by the Institute for Medical Research Ethics Committee in Serbia (EO112/2015).

In a cross sectional study, conducted during one-year period – from June 2014 to July 2015, 503 women aged 18–49 years ($\bar{x}=34.09\pm 10.72$) completed dietary questionnaires (F-FFQ and three 24h dietary recalls) and representative validation subsample ($n = 50$) provided fasting blood samples for biomarker analyses. The estimated daily folate intakes were $206.2\pm 61.3 \mu\text{g DFE}$ and $211.0\pm 111.0 \mu\text{g DFE}$, based on F-FFQ and three 24h recalls. Only 6.16% and 6.76% of all the participants reached folate EAR (EAR-Estimated Average Requirement) benchmark while 96.22% and 93.64% had folate intakes below recommended $400 \mu\text{g DFE/day}$ based on repeated 24h recalls and FFQ, respectively. Correlation coefficients observed between F-FFQ and three 24 h recalls were $r = 0.56$ ($p < 0.001$) and $r = 0.57$ ($p < 0.001$) for total sample and validation group, respectively. Bland–Altman plot and cross-classification analyses indicated good agreement between methods. Mean folate serum level in the studied women was $12.29\pm 6.59 \text{ nmol/L}$ and RBC folate $438.66\pm 144.63 \text{ nmol/L}$. The application of the triads method resulted in high validity coefficients between the true intake and the F-FFQ regardless of biomarker used ($\rho_{\text{QIrbcb}} = 0.871$ and $\rho_{\text{QIser}} = 0.814$) with narrow 95% confidence intervals and without Haywood cases which implies absence of random sampling fluctuation between methods or violation of basic model assumptions. This triangulation analyses provided additional valuable insight into F-FFQ's performance and strengthened the evidence supporting its validity. The F-FFQ is specific in respect to gender, age and geographic determiners, and, based on our knowledge, this is the first FFQ created and validated for the assessment of folate intake by women of reproductive age in Serbia.

Healthcare professionals, being reliable members of the community, may significantly contribute to the improvement of maternal and newborns' health by the delivery of timely, accurate and evidence-based information and advice. Pharmacists and pharmacy technicians are ideally positioned within the health care system to promote periconceptional folic acid supplementation and to participate in the health education of women of reproductive age. Unique accessibility of community pharmacies provides strategically significant platform for achieving greater coverage of targeted population group. Dissemination of health-promotional messages regarding folic acid and stimulation of women to apply preventive measures is supported by the International Pharmaceutical

Federation (FIP). In order to efficiently address public health needs, it is essential for community pharmacy professionals to have positive perception of the importance of preconception care-related activities, as well as adequate knowledge, skills and motivation to integrate them into everyday work practice.

In order to assess the knowledge, attitudes, and practice (KAP) of Serbian community pharmacists, pharmacy technicians and pharmacy students with regards to counselling women of reproductive age on adequate folate intake, questionnaire-based cross-sectional study was conducted from October 2015 to December 2016. The study included nationwide stratified sample of licensed pharmacists and pharmacy technicians, working in both private and state-owned community pharmacies in Serbia. Pharmaceutical Chamber of Serbia membership directory was used as a sampling frame and geographical quotas were established in order to obtain sample proportional to actual distribution of community pharmacists on a national scale. Participation in the study was offered to all pharmacy technicians and interns working in the same pharmacies as recruited pharmacists. With regards to pharmacy students, the study was conducted from March to May 2016, and Participation in the study was offered to all final year students who were present at the faculty on predefined recruitment days. Detailed literature review, expert consultation and pre-testing were employed in questionnaire development. A multidisciplinary expert panel confirmed its face and content validity, during the pilot study questionnaire analysis indicated good internal consistency, and finally, during the main study psychometric properties of the knowledge test and factor structure of the attitudes assessment scale were evaluated affirmatively. Ethical approval for this study was granted by the Ethics Committee for Clinical Trials, Faculty of Pharmacy - University of Belgrade (Dossier nr. 261/2).

Among 730 survey participants from community pharmacies, 96.6% correctly identified types of deformities that could be prevented by folic acid and 77.0% recognized recommended dosage for women capable of becoming pregnant. However, fewer were able to recognize the optimal timing for folic acid supplementation (61.1%) and the proper dose for NTD recurrence prevention (42.9 %). While 43.2% of pharmacy technicians thought that it is not their responsibility to provide counselling concerning measures for the prevention of congenital anomalies only 4.7% of licensed pharmacists and none of the interns were of that opinion ($\chi^2=198.287$, $df=4$, $p<0.001$). The majority of respondents (54.7%) reported provision of informative consultation concerning folic acid once a week or few times a month, while only 10 stated to do so on a daily basis. In addition, based on self-report, only 36.7% of participants communicate information and advice regarding adequate folate status at their own initiative, while the rest addresses this topic only on patients request i.e. reactively. Critical areas of knowledge deficiencies concerning specific aspects of folic acid nutrition were confirmed among final-year pharmacy students.

In order to overcome low level of self-assessed competency and motivation, initiate behavioral change and improve current and future performance of pharmacy staff, implementation of targeted training programmes is warranted.

Accordingly, an educational program was created for pharmacists and pharmacy technicians practicing in community pharmacies in Serbia and intervention study, based on experimental pretest-posttest design, was conducted with an aim to assess its impact. Ethical approval for this study was granted by the Ethics Committee for Clinical Trials, Faculty of Pharmacy - University of Belgrade (Dossier nr. 656/2).

The study included 166 subjects divided in four strata according to geographical distribution corresponding to regional branches of relevant Chambers of health professionals. Analysis of the baseline data confirmed comparable structure of investigated cohorts. Regardless of the implemented analytical procedure, findings indicated significant improvement of the achievement on a knowledge test among participants belonging to the experimental group. All statistical indicators of the effect size suggested great influence of the educational programme, while accomplishments on the final post-test confirmed good retention of the acquired knowledge. Additionally, the end-point data revealed statistically significant difference between trained study participants and pharmacy staff members deprived of educational intervention. Contrasting subjects from the control group, the attitudes of pharmacy team members that were exposed to the educational program were significantly altered toward better understanding of the health benefits of periconceptional folic acid supplementation and magnitude of congenital anomalies regarding clinical, humanistic, and economic determinants. Furthermore, perception of professional responsibility for the implementation of health education activities was intensified in this cohort as well as preparedness to address real challenges and potential barriers to effective counselling in everyday practice. Observed changes in knowledge and attitudes translated into practice through improvement of both self-perceived competency and objective measures of proactive folic acid advocacy.

Keywords: folates, folic acid, periconceptional care, food frequency questionnaire, validation, method of triads, pharmacy practise, KAP study, educational intervention, pretest-posttest experimental design with control group

Scientific field: Pharmacy

Scientific discipline: Social pharmacy and pharmacy practice research

UDC number: 615.014/07:577.164.1]-055.2(043.3)

SADRŽAJ

1	UVOD	1
1.1	Folati – struktura i biološka uloga	2
1.1.1	Istorijski pregled: otkriće i sinteza folne kiseline	2
1.1.2	Folna kiselina i folati iz dijetarnih izvora: Strukturne i funkcionalne razlike	3
1.1.3	Biološka uloga folata	6
1.2	Dijetarni izvori, biološka raspoloživost i homeostaza folata	8
1.2.1	Dijetarni izvori folata	8
1.2.2	Biološka raspoloživost folata	10
1.2.3	Resorpcija i homeostaza folata	11
1.3	Preporučene vrednosti unosa folata	12
1.4	Evaluacija dijetarnog unosa folata	15
1.4.1	Direktne prospektivne subjektivne metode za procenu dijetarnog unosa	17
1.4.2	Direktne retrospektivne subjektivne metode za procenu dijetarnog unosa	18
1.5	Biohemijski pokazatelji statusa folata	24
1.6	Deficijencija folata – rizične grupe i zdravstvene posledice	28
1.6.1	Populacione grupe u riziku od deficita folata	28
1.6.2	Interakcije folata i lekova	33
1.6.3	Klinički deficit folata	39
1.7	Folna kiselina i prevencija defekata nervne cevi	41
1.7.1	Defekti nervne cevi	41
1.7.2	Prevencija defekata nervne cevi – istorijski pregled istraživanja	46
1.7.3	Perikonceptijska suplementacija folnom kiselinom – aktuelne preporuke	50
1.8	Strategije za optimizaciju unosa i statusa folata kod žena reproduktivne dobi	52
1.9	Uloga farmaceuta i farmaceutskih tehničara u savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata	54
2	CILJEVI	58

3	MATERIJALI I METODE	60
3.1	Prva studija: Validacija upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji	61
3.1.1	Metod trijade.....	61
3.1.2	Ispitanici.....	63
3.1.3	Antropometrijska merenja	63
3.1.4	Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji (<i>Folate Food Frequency Questionnaire – F-FFQ</i>).....	64
3.1.5	Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane.....	65
3.1.6	Obrada dijetarnih upitnika	66
3.1.7	Analiza biohemijskih pokazatelja statusa folata	67
3.1.8	Statistička obrada podataka validacione studije	69
3.2	Druga studija: Analiza znanja, stavova i prakse članova farmaceutske tima-farmaceuta i farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama u Republici Srbiji u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata ..	71
3.2.1	Ispitanici.....	71
3.2.2	Prikupljanje podataka	73
3.2.3	Upitnik za procenu znanja, stavova i prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata	74
3.2.4	Statistička obrada podataka KAP studije.....	77
3.3	Treća studija: Uticaj intervencije edukativnog tipa na znanja, stavove i praksu farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata	81
3.3.1	Ispitanici.....	81
3.3.2	Plan studije.....	82
3.3.3	Teorijski okvir.....	84
3.3.4	Statistička analiza podataka intervencijske studije	85
3.4	Etička odobrenja za sprovođenje istraživanja.....	89
4	REZULTATI	90
4.1	Rezultati validacione studije.....	91
4.1.1	Karakteristike ispitanica i struktura uzorka	91
4.1.2	Procena dijetarnog unosa, dominantni izvori folata i analiza biomarkera statusa folata	93

4.1.3	Analiza slaganja procena o dijetarnom unosu zasnovanih na 24h anketama ishrane i F-FFQ-u	98
4.1.4	Validacija F-FFQ-a: metod trijade.....	103
4.2	Rezultati KAP studije.....	105
4.2.1	Proces regrutacije ispitanika i struktura uzorka.....	105
4.2.2	Znanje ispitanika u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata.....	108
4.2.3	Metrijska svojstva testa za procenu znanja.....	110
4.2.4	Stavovi ispitanika u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata.....	112
4.2.5	Faktorska analiza strukture upitnika za procenu stavova	114
4.2.6	Praksa farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata.....	120
4.2.7	Stavovi, znanja i izvori informacija studenata farmacije u vezi sa perikonceptijskom primenom dijetetskih suplemenata folne kiseline	126
4.3	Rezultati studije intervencije	130
4.3.1	Struktura uzorka: karakteristike ispitanika iz eksperimentalne i kontrolne grupe.....	130
4.3.2	Komparativna analiza znanja o folatima između eksperimentalne i kontrolne grupe i evaluacija promena u znanju u funkciji edukativne intervencije.....	132
4.3.3	Komparativna analiza stavova o savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata između eksperimentalne i kontrolne grupe farmaceuta i farmaceutskih tehničara	142
4.3.4	Savetodavna praksa farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz eksperimentalne i kontrolne grupe tokom intervencione studije	148
4.3.5	Procena zadovoljstva polaznika edukativnim programom o biološkoj ulozi i značaju folata	152
5	DISKUSIJA	154
6	ZAKLJUČNA RAZMATRANJA	171
7	LITERATURA	176
8	PRILOZI	202
8.1	Prilog I: Spisak tabela	203

8.2	Prilog II: Spisak slika	206
8.3	Prilog III: Lista namirnica uključenih u F-FFQ	209
8.4	Prilog IV: Upitnik - Stavovi, praksa i znanja farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata	210
8.5	Prilog V: Kontrolne liste za evidenciju aktivnosti u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata.....	217
8.6	Prilog VI: Evaluacioni upitnik za procenu zadovoljstva polaznika edukacionim programom.....	219
8.7	Prilog VII: Biografija autora.....	220

LISTA SKRAĆENICA I AKRONIMA

24-hDR	Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane (eng. <i>24-hour dietary recall</i>)
AI	Adekvatni unos (eng. <i>Adequate Intake</i>)
ANCOVA	Analiza kovarijanse (eng. <i>Analysis of Covariance</i>)
ANOVA	Analiza varijanse (eng. <i>Analysis of Variance</i>)
BMI	Indeks telesne težine (eng. <i>Body Mass Index</i>)
CDC	Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (eng. <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>)
CI	Interval pouzdanosti (eng. <i>Confidence Interval</i>)
CMIA	Hemiluminiscentna mikročestična imunoesej tehnologija (eng. <i>Chemiluminiscent Microparticle Immunoassay</i>)
CV	Koeficijent varijacije (eng. <i>Coefficient of Variation</i>)
DALY	Godine života korigovane u odnosu na nesposobnost (eng. <i>Disability Adjusted Life Years</i>)
DAP	Dobra apotekarska praksa
DFE	Dijetetski ekvivalent folata (eng. <i>Dietary Folate Equivalent</i>)
DHFR	Dihidrofolat reduktaza
DNK	Dezoksiribonukleinska kiselina
DRI	Referentni dijetarni unos (eng. <i>Dietary Reference Intakes</i>)
d-TMP	Deoksitimidilat (deoksitimidin monofosfat)
d-UMP	Deoksiuridilat (deoksiuridin monofosfat)
EAR	Procenjene prosečne potrebe (eng. <i>Estimated Average Requirements</i>)
EFSA	Evropsko regulatorno telo za bezbednost hrane (eng. <i>European Food Safety Authority</i>)
EHFC	Enterohepatični ciklus folata (eng. <i>Enterohepatic Folate Cycle</i>)
FAO/UN	Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (eng. <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>)
FCDB	Baza podataka o sastavu namirnica (eng. <i>Food Composition Database</i>)
FDA	Američka agencija za hranu i lekove (eng. <i>Food and Drug Administration</i>)
F-FFQ	Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji
FFI	Inicijativa za fortifikaciju hrane (eng. <i>Food Fortification Initiative</i>)
FFQ	Upitnik o učestalosti konzumacije hrane (eng. <i>Food Frequency Questionnaire</i>)
FIP	Međunarodna farmaceutska federacija (eng. <i>International Pharmaceutical Federation</i>)
FPGS	Folilpoliglutamatsintetaza
GCPH	γ -glutamil karboksipeptidaza II
HPLC	Tečna hromatografija visokog pritiska (eng. <i>High-Pressure Liquid Chromatography</i>)

K₃EDTA	Trikalijumetilendiaminotetrasićetna kiselina
LoA	Granice/limiti slaganja (eng. <i>Limits of Agreement</i>)
MRC	Savet za medicinska istraživanja Ujedinjenog Kraljevstva (eng. <i>Medical Research Council of The United Kingdom</i>)
MTHFR	Metilentetrahidrofolat reduktaza
NDA	Panel za dijetetske proizvode, ishranu i alergije (eng. <i>Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies</i>)
NTD	Defekti nervne cevi (eng. <i>Neural Tube Defects</i>)
PABA	P-aminobenzojeva kiselinu (eng. <i>Para-AminoBenzoic Acid</i>)
PCA	Analiza glavnih komponenti (eng. <i>Principal Component Analysis</i>)
PSEA	Pomoćni instrumenti za olakšavanje procene veličine porcija (eng. <i>Portion Size Estimation Aids</i>)
PteGlu	Pteroilmonoglutamat
PteGlu_n	Pteroilpoliglutmat
rBR	Koeficijent korelacije između 24h-anketa ishrane i biomarkera statusa
RDA	Preporučeni dnevni unos (eng. <i>Recommended Dietary Allowances</i>)
RFC	Proteinski nosač redukovanih folata (eng. <i>Reduced Folate Carrier</i>)
RNI	Preporučeni dnevni unos nutrijenta (eng. <i>Recommended Nutrient Intake</i>)
RNK	Ribonukleinska kiselina
rQB	Koeficijent korelacije između FFQ-a i biomarkera statusa
rQR	Koeficijent korelacije između FFQ-a i 24h-anketa ishrane
RR	Relativni rizik (eng. <i>Relative Risk/ Risk Ratio</i>)
SAH	S-adenozilhomocistein
SAM	S-adenozilmetionin
SD	Standardna devijacija (eng. <i>Standard Deviation</i>)
SFC	Sistemska cirkulacija folata (eng. <i>Systemic Folate Circulation</i>)
SPSS	Statistički paket za društvene nauke (eng. <i>Statistical Package for Social Science</i>)
UL	Podnošljiva gornja granica dozvoljenog unosa (eng. <i>Tolerable Upper Intake Levels</i>)
WHO	Svetska zdravstvena organizacije (eng. <i>World Health Organization</i>)
pQI	Koeficijent validacije upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica

1 UVOD

1.1 Folati – struktura i biološka uloga

Termin folati koristi se kao opšti deskriptor za grupu hemijskih i funkcionalno srodnih jedinjenja koja obuhvata folate koji se prirodno nalaze u namirnicama i folnu kiselinu, koja predstavlja oksidovanu sintetsku formu ovog hidrosolubilnog B vitamina. Folati pripadaju grupi esencijalnih nutrijenata sa ključnom ulogom u mnogim biosintetskim i metaboličkim procesima u organizmu.

1.1.1 Istorijski pregled: otkriće i sinteza folne kiseline

Folna kiselina, poznata je i kao vitamin B₉, vitamin B_c, vitamin M, Lactobacillus casei faktor i folacin ^(1,2). Lucy Wills (1888-1964), uvaženi engleski botaničar, geolog i lekar i jedan od pionira istraživanja u oblasti hematologije, boravila je u Bombaju od 1928.godine i istraživala tzv. tropsku makrocitnu anemiju (uključujući tzv. trudničku pernicioznu anemiju), koja je bila široko zastupljena među gravidnim tekstilnim radnicama u Indiji. Shvativši da je prevalenca anemije znatno veća među ženama nižeg socioekonomskog statusa, čija je ishrana bila nedovoljno raznovrsna i nutritivno oskudna dr Wills i njeni saradnici su istraživanje usmerili ka nutritivnim agensima za prevenciju i terapiju ovog patološkog stanja. Nakon uspešno sprovedenih istraživanja na animalnim modelima (albino pacovi i rezus majmuni), dr Wills i grupa istraživača koje je predvodila su 1931.godine utvrdili da se makrocitna anemija kod trudnica može prevenirati i lečiti primenom ekstrakta kvasca bogatog vitaminima B grupe (tzv. *Marmite*) ^(3,4). Nepoznato jedinjenje odgovorno za efikasnost pomenutog agensa kasnije su Janet Watson i William Castle označili kao Wills faktor ⁽⁵⁾.

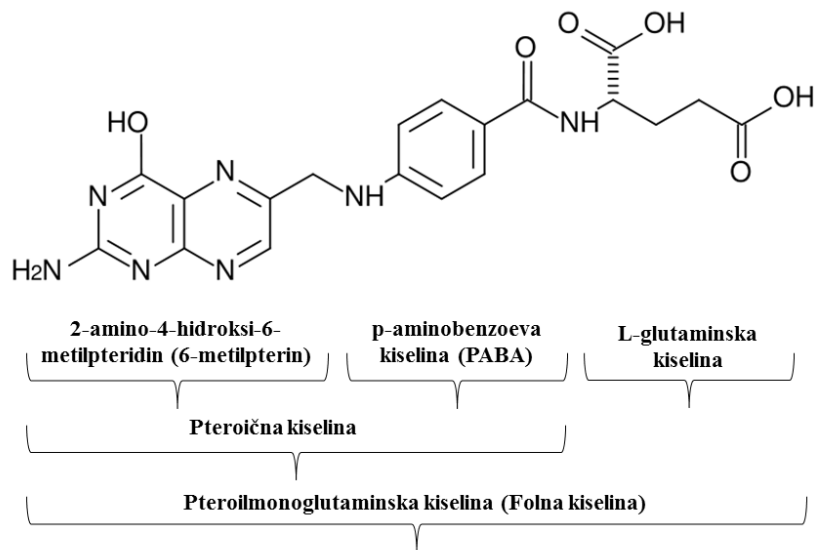
U narednom periodu registrovani su i opisani faktori koji su bili efikasni kao terapeutici protiv nutritivne pancitopenije kod majmuna ^(6,7) i kao antianemijski i faktori rasta kod pilića ^(8,9). Budući da nije ispitivana, a ni utvrđena njihova međusobna veza, ova

jedinjenja su zabeležena pod različitim nazivima, kao što su vitamin M (od eng. *monkey* – majmun) i vitamin Bc (od eng. *chick* – pile), iako se radilo o istoj aktivnoj supstanci.

Deceniju nakon inicijalnog otkrića dr Wills, Mitchell i saradnici su pokazali da je pomenuto jedinjenje neophodan faktor rasta za *Streptococcus lactis R* (*Streptococcus faecalis*), uspešno ga izolovali iz četiri tone listova spanaća i tada ga, inspirisani latinskom rečju *folium* tj. list nazvali folnom kiselinom ⁽¹⁰⁾. Dve istraživačke grupe, koje su predvodili Robert Stokstad (1913–1995) i Joseph John Pfiffner (1903–1975), su 1943.godine potpuno nezavisno izolevale čist vitamin u kristalnom obliku iz kvasca ⁽¹¹⁾, odnosno džigerice ⁽¹²⁾. Usledila je hemijska sinteza, identifikacija i karakterizacija folne kiseline ⁽¹³⁾. Sintetska forma folne kiseline bila je efikasna u lečenju megaloblastne anemije i to posebno kod pacijenata koji nisu dobro reagovali na terapiju jetrenim ekstraktima. Međutim, ovaj agens nije mogao da prevenira ili tretira neurološka oštećenja koja su nastala kao posledica anemije za koju se danas zna da je uzrokovana deficitom vitamina B₁₂ (tzv. perniciozna anemija) . Budući da je folna kiselina prepoznata kao faktor rasta usledila su istraživanja usmerena ka razvoju antagonista folata kao potencijalnih antikancerskih i antimikrobnih agenasa. George Hitchings (1905–1998) i Gertrude Elion (1918–1999), dobitnici Nobelove nagrade, dali su posebno značajan doprinos u ovoj oblasti.

1.1.2 Folna kiselina i folati iz dijetarnih izvora: Strukturne i funkcionalne razlike

Hemijska struktura folne kiseline podrazumeva biciklični molekul pterina vezan metilenskim mostom za p-aminobenzojevu kiselinu (PABA), koja je preko peptidne veze povezana sa molekulom glutaminske kiseline (slika 1). Deo strukture koji čine pterin i p-aminobenzojeva kiselina predstavlja tzv. pteroičnu kiselinu, pa se folna kiselina još naziva i pteroil-monoglutaminska kiselina.

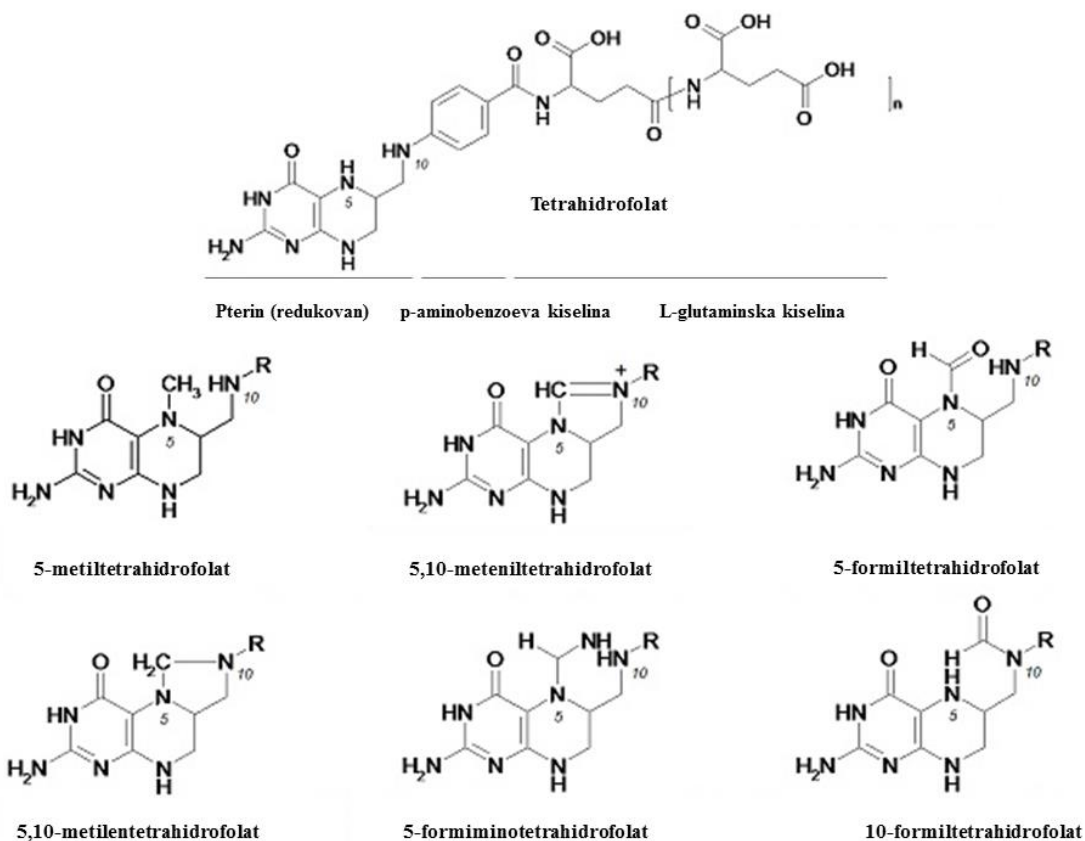


Slika 1. Hemijska struktura folne kiseline

Postoje tri osnovna aspekta u kojima se uočava razlika između folata prirodnog porekla i sintetske forme vitamina. Prvo, u hrani se folati prirodno nalaze u poliglutamnim oblicima, sa dodatnim molekulima glutaminske kiseline koji su međusobno povezani neuobičajenim γ -peptidnim vezama formirajući tako pteroiloligo γ -L-glutamate (PteGlu_n, n-broj glutaminskih rezidua). Pored toga, u većini namirnica, pteridinski prsten redukovano je do 7,8-dihidrofolata (DHF) ili 5,6,7,8-tetrahidrofolata (THF). Konačno, ovi redukovani oblici često su supstituisani grupama sa jednim ugljenikovim atomom (npr. metil, metilen, metenil, formil...) na položaju N₅ i/ili N₁₀ (slika 2) ⁽¹⁴⁾.

Rastvorljivost folne kiseline u vodi iznosi 1.6 mg L⁻¹ na temperaturi od 25 °C ; umereno je rastvorljiva u metanolu, slabije u etanolu i butanolu i nerastvorljiva u acetonu, hloroformu, etru i benzenu. Brojni oblici folata značajno se razlikuju i po pitanju podložnosti oksidativnoj degradaciji, termolabilnosti i stabilnosti u zavisnosti od pH vrednosti sredine. Folna kiselina i folati iz dijetarnih izvora su nestabilni u kiselim rastvorima, a relativno stabilni u baznim i neutralnim medijumima. Osetljivi su na delovanje ultravioletnog (UV) zračenja, toplote i izloženost vazduhu ⁽¹⁵⁾. Nedvosmisleno je pokazano da je najstabilniji oblik vitamina folna kiselina ⁽¹⁶⁾. Dok folati iz prirodnih izvora vrlo brzo gube biološku aktivnost tokom

skladištenja, prerade i pripreme hrane, folna kiselina dugo zadržava stabilnost i zato se uspešno koristi u formi suplemenata i u procesu fortifikacije namirnica ⁽¹⁴⁾.



Slika 2. Primeri folata iz dijetarnih izvora

Budući da su folati hidrosolubilni vitamini značajna količina se gubi usled izlaganja povišenoj temperaturi i prelaska u vodu u kojoj je namirnica kuvana ⁽¹⁷⁾. Na stepen gubitka folata iz hrane utiču različiti faktori kao što su izloženost kiseoniku, kiselost okruženja, koncentracija metalnih jona, sadržaj antioksidanasa, temperatura, trajanje procesa i odnos mase namirnice i vode u kojoj se kuva ⁽¹⁸⁾. Što je veća količina vode primenjena u procesu kuvanja, veći je očekivani gubitak vitamina ⁽¹⁷⁾. Primena odgovarajućih antioksidanata i skladištenje u uslovima snižene temperature i azotne atmosfere mogu doprineti usporavanju degradacionih procesa ⁽¹⁵⁾.

1.1.3 Biološka uloga folata

Folati imaju važnu ulogu kao koenzimi u mnogim značajnim biohemijskim procesima kao što su: sinteza aminokiselina, nukleinskih kiselina (RNK i DNK), hormona i neurotransmitera, deoba ćelija, metabolizam proteina i formiranje crvenih krvnih ćelija. Biološka uloga i značaj folata zasniva se na učešću u odvijanju biosintetskih i metaboličkih procesa u okviru histidinskog ciklusa, ciklusa serina i glicina, metioninskog ciklusa, kao i timidilatnog i purinskog ciklusa ⁽¹⁹⁾. Svoje funkcije folati suštinski ostvaruju putem reakcija transfera funkcionalnih grupa sa jednim ugljenikovim atomom (tzv. *single-carbon metabolism*). Ključne reakcije u kojima učestvuju su sinteza timidilata, metionina i purina, katabolizam histidina i konverzija serina do glicina ⁽²⁰⁾.

Pteroilpoliglutamati oblici su supstrati brojnih enzima uključenih u monokarbonski metabolizam. Pteroilmonoglutamati podležu konverziji u poliglutaminske forme pod uticajem folilpoliglutamata sintaze pre uključivanja u pomenute biosintetske i metaboličke procese. Najčešći fiziološki supstrat folilpoliglutamata sintaze je redukovani vitamerni tetrahydropterilglutamat, a poliglutaminski oblik navedenog jedinjenja ima ključnu ulogu u reakcijama transfera monougljeničnih funkcionalnih grupa.

U citoplazmi folati učestvuju u tri metabolička puta: remetilacija homocisteina, *de novo* sinteza purina i *de novo* sinteza timidilata. Supstituisani derivati 10-formiltetrahydrofolat i 5,10-meteniltetrahydrofolat obezbeđuju monokarbonske jedinice u procesu *de novo* sinteze purinskih nukleotida (adenina i guanina), dok je 5,10-metilentetrahydrofolat neophodan kofaktor u procesu generisanja timidinmonofosfata, pirimidinskog nukleotida, iz prekursora - deoksi uridinmonofosfata ⁽²¹⁾.

Monoglutamati folata prisutni u citosolu ćelija transportuju se u mitohondrije preko redukovanog folatnog nosača, gde dolazi do njihove konverzije u poliglutamatske forme ⁽²²⁾. U mitohondrijama se nalazi oko 40% ćelijskog sadržaja folata, a poliglutamatski folati u citosolu i mitohondrijama predstavljaju dva nezavisne celine, među kojima se ravnoteža održava indirektno, razmenom monougljeničnih jedinica – formata ^(23,24). U

mitohondrijama, 5,10-metilentetrahidrofolat najpre nastaje konverzijom serina u glicin (pod uticajem enzima serin hidroksimetil transferaza i uz delovanje kofaktora piridoksal fosfata), nakon čega se odigrava sekvencijalni prenos monokarbonskih jedinica do 10-formiltetrahidrofolata (pod uticajem enzima metilentetrahidrofolat ciklohidrolaze) i potom do formata (pod uticajem formiltetrahidrofolat deformilaze), koji zatim napuštaju mitohondrije. Nastali formati se u citosolu ponovo konvertuju do 10-formiltetrahidrofolata, ključnog jedinjenja u sintezi timidilata, metionina i purina, spajanjem sa tetrahidrofolatom pod uticajem enzima format tetrahidrofolat ligaza.

U okviru katabolizma histidina, u prisustvu folata, a pod uticajem histidinske amonijačne lijaze dolazi do deaminacije pri čemu nastaje katabolički intermedijer - urokanska kiselina. Ovo jedinjenje se dalje dejstvom urokanaze transformiše u formiminoglutaminsku kiselinu i naknadno delovanjem formiminotransferaze u glutaminsku kiselinu. Ova kiselina značajna je za normalno odvijanje metabolizma masti i šećera, kao i za transport kalijumovih jona u spinalnu tečnost i kroz hematoencefalnu barijeru ⁽¹⁹⁾. Anjon glutaminske kiseline, glutamat, izuzetno je važan neurotransmiter, koji zahvaljujući ulozi u sinaptičkom plasticitetu ostvaruje značajan uticaj na odvijanje kognitivnih procesa učenja i pamćenja ⁽²⁵⁾. Nizak nivo glutamata doveden je u vezu sa povećanim rizikom od nastanka shizofrenije, depresije, kognitivnih poremećaja, psihoze i anksioznih poremećaja ^(26,27).

Folati imaju krucijalnu ulogu i u normalnom odvijanju metioninskog ciklusa kojim se homocistein transformiše u metionin i formira univerzalni doner metil grupe S-adenozilmetionin (SAM). Redukovani oblik folata, supstituisan na položaju N⁵, 5-metiltetrahidrofolat, deluje kao ko-supstrat u remetilaciji homocisteina u reakciji koju katalizuje metionin sintaza. Za ovu reakciju je, pored folata, od velikog značaja i uticaj vitamina B₁₂, budući da je neophodno kofaktorsko delovanje metilkobalamina ⁽²⁸⁾. Na ovaj način se regeneriše esencijalna aminokiselina metionin, koja se koristi za sintezu proteina, ali i formiranje S-adenozilmetionina (spajanjem sa adenzin trifosfatom pod uticajem metionin adenziltransferaze). SAM se u organizmu koristi za reakcije transmetilacije, transulfuracije i aminopropilacije. Zahvaljujući hemijskoj reaktivnosti metil grupe koja je

vezana za metioninski atom sumpora, SAM je donor metil grupe za više od 100 metiltransferaza. Ostvaruje značajnu ulogu u mnogim fiziološkim procesima putem metaboličkih reakcija široke palete supstrata, kao što su DNK, hormoni, neurotransmiteri i membranski fosfolipidi ⁽²⁹⁾. Uklanjanjem metil grupe S-adenozilmetionin se konvertuje do S-adenozilhomocisteina, koji podleže hidrolizi pod uticajem S-adenozilhomocistein hidrolaze do adenzina i homocisteina. U slučaju deficita 5-metiltetrahidrofolata ili kobalamina, homocistein se akumulira jer izostaje remetilacija do metionina. Ravnoteža reakcije koju katalizuje S-adenozilhomocistein hidrolaza favorizuje stvaranje S-adenozilhomocisteina, što, u slučaju povećanja nivoa homocisteina, može dovesti do akumulacije ovog jedinjenja, koje je potentan inhibitor mnogih metiltransferaza ⁽³⁰⁾. Homocistein se u procesu transulfuracije može konvertovati u cistein, ili, u pojedinim tkivima (jetra i bubrezi), remetilovati delovanjem betain-homocisteinmetiltransferaze ⁽²³⁾. U slučaju deficijencije folata, nastaje i deficit metionina, što dalje uzrokuje smanjenu produkciju glutaciona - tripeptida značajnog antioksidativnog potencijala, koji štiti ćelije od razarajućeg delovanja reaktivnih kiseoničnih vrsta. Takođe, deficit metionina ima reperkusije i na nivou statusa sumpornih aminokiselina (cisteina i taurina), koje imaju važnu funkciju u detoksikaciji, očuvanju strukture različitih tkiva i promociji kardiovaskularnog zdravlja. Dodatno, u uslovima nedovoljnog formiranja metionina, poremećena je sinteza kolagena, što se negativno odražava na strukturu i funkciju kože, noktiju i vezivnog tkiva ^(19,31).

1.2 Dijetarni izvori, biološka raspoloživost i homeostaza folata

1.2.1 Dijetarni izvori folata

Budući da se u organizmu sisara ne može sintetisati pteridinski ciklus koji je element strukture folata adekvatne količine ovih jedinjenja koja imaju esencijalnu ulogu u brojnim biohemijskim procesima moraju se obezbediti putem hrane i/ili suplementacijom. Folati u prirodi egzistiraju u više različitih hemijskih oblika i prisutni su u brojnim

namirnicama biljnog životinjskog i porekla (Tabela 1). Zeleno lisnato povrće, kvasac, mahunarke, citrusno voće, žumance i iznutrice su primeri namirnica posebno bogatih folatima ⁽²⁰⁾.

Tabela 1. Sadržaj folata u pojedinim namirnicama (adaptirano prema Srpskoj bazi podataka o sastavu namirnica - Serbian Food Composition Database (FCDB)) ⁽³²⁾

Namirnica	Sadržaj folata (μg u 100g namirnice)
Kvasac, pekarski, suvi	4000
Peršun, sušeni listovi	391
Jetra, pileća	380
Junece iznutrice, sveze	240
Brokoli, svež	239
Soja, suva	230
Pasulj, beli	226
Spanać, svež	220
Jetra, jagnjeća	220
Jaje kokosije-zumance	160
Prokelj, svež	159
Svinjske iznutrice, sveze	136
Praziluk	127
Grasak, svež	121
Socivo, braon, suvo	110
Seme susama	97
Paprika, crvena	88
Paskanat, koren	87
Jagoda, sveža	86
Karfiol, cvet	85.9
Keleraba, sveža	82
Orah, suvi	78
Lesnik, suvi	72
Boranija, sveža	56

Prirodni folati su dominantno u obliku redukovanih supstituisanih poliglutaminskih derivata i najčešće vezani za proteine i skladišne polisaharide ⁽¹⁷⁾. Pre resorpcije poliglutamatne rezidue uklanja enzim folilpoli γ -glutamil karboksipeptidaza (folat konjugaza/ poliglutamat hidrolaza), pa se folati transportuju kroz intestinalnu mukozu u formi monoglutamata ^(33–35).

1.2.2 Biološka raspoloživost folata

Biološka raspoloživost folata definiše se kao udeo unetih folata koji je apsorbovan i dostupan za metaboličke reakcije i/ili skladištenje u organizmu. Na biološku raspoloživost folata iz hrane utiče veliki broj faktora i smatra se da je efikasnost apsorpcije ovih jedinjenja oko 50% (uz visok stepen varijabilnosti od 10 do 90%) ⁽³⁶⁾. Sa druge strane, sintetska, potpuno oksidovana forma vitamina – folna kiselina (tj. pteroilmonoglutaminska kiselina) ima biološku raspoloživost od 100 % kada se uzima na prazan stomak, sa vodom, odnosno oko 85% ako se uzima uz hranu ⁽³⁷⁾.

Ograničen stepen oslobađanja iz dijetarnog matriksa, nepotpuna hidroliza glutamatnih rezidua i moguće reakcije degradacije u gastrointestinalnom traktu su neki od faktora koji ometaju resorpciju prirodnih folata iz hrane, a koji ne utiču na sintetsku folnu kiselinu. Naime, ovaj oblik vitamina B₉ ne zahteva oslobađanje iz ćelijskih struktura dijetarnog matriksa, potpuno je oksidovan, pa i značajno stabilniji od redukovanih derivata, a i u formi je monoglutamata, pa ne zavisi od aktivnosti folat konjugaze.

Na raspoloživost svih vitamina tj. oblika folne kiseline bez obzira na poreklo utiču faktori specifični za pojedinca kao što su: status folata, ali i drugih nutrijenata (vitamina C, B₆, B₁₂, niacina, riboflavina, holina, Zn) u organizmu, genetski faktori, varijacije homeostatskih mehanizama, uticaj određenih oboljenja i razlike vezane za uzrast, pol, rasu i druge biološko/fiziološke faktore ^(37–40).

Problematična stabilnost i varijabilna biološka raspoloživost prirodnih folata mora se uzeti u obzir pri definisanju preporuka o unosu ovog nutrijenta. To je posebno značajno ako se deo potreba za ovim vitaminom zadovoljava unosom dijetetskih suplemenata ili fortifikovanih namirnica. Upravo zbog razlika u raspoloživosti folata iz različitih izvora 1998. godine Američki Institut za medicinu, Nutricioni odbor Nacionalne akademije nauka, utvrdio je DFE – dijetetske ekvivalente folata kao jedinicu u kojoj je izražen preporučeni unos. Iako su rezultati studija pokazali varijabilne rezultate, za potrebe izračunavanja uzeto

je da je biološka raspoloživost folata iz hrane oko 50%, folne kiseline uzete samo sa vodom 100%, a sa hranom 85% ⁽⁴¹⁻⁴³⁾. Iz ovoga sledi da je folna kiselina iz fortifikovanih namirnica ili dijetetskih suplemenata 1.7 (85/50) odnosno 2.0 (100/50) puta veće raspoloživosti nego folati prirodno prisutni u namirnicama. Drugačije izraženo, raspoloživost folata iz hrane iznosi 60% raspoloživosti folne kiseline konzumirane uz obrok $(50/85 \times 100)$ ^(37,41). Dakle, ako se potrebe organizma za folatima zadovoljavaju kombinacijom prirodnih folata iz hrane i sintetskog analoga za procenu unosa koristi se sledeća formula:

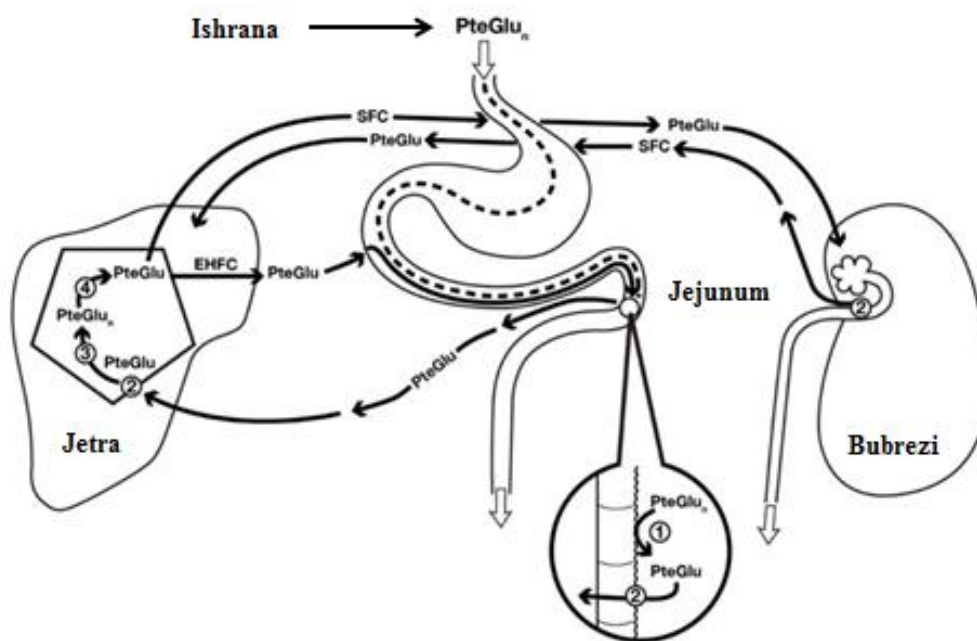
$$\mu\text{g DFE} = [\mu\text{g folata prirodno prisutnih u hrani} + (1.7 \times \mu\text{g sintetske folne kiseline})]$$

(jer je $1 \mu\text{g DFE} = 1 \mu\text{g folata prirodno prisutnih u hrani} = 0.5 \mu\text{g folne kiseline uzete na prazan stomak} = 0.6 \mu\text{g folne kiseline uzete uz hranu}$) ⁽⁴¹⁾.

1.2.3 Resorpcija i homeostaza folata

Folat iz dijetarnih izvora, dominantno u obliku pteroilpoliglutamata (PteGlu_n) podleže hidrolizi na nivou četkastog pokrova (tj. tubularnih izdignuća apikalnog dela ćelijske membrane) jejunuma pod uticajem intestinalne γ -glutamil karboksipeptidaze II (GCPII) do oblika pteroilmonoglutamata (PteGlu). Ovi oblici vitamina dalje podležu metilaciji i transportu kroz membranu enterocita pod uticajem proteinskog nosača redukovanih folata (eng. *reduced folate carrier - RFC*) preko vene porte do jetre. Transport preko bazolateralne membrane hepatocita se odvija zajedničkim delovanjem proteinskog nosača redukovanih folata, folat-vezujućih proteina i proton-kuplovanog folatnog transportera. U jetri folati podležu ponovnom povezivanju glutaminskih rezidua pod uticajem intracelularne folilpoliglutamatsintetaze (FPGS) do oblika pteroilpoliglutamata (PteGlu_n) koji se zatim skladišti. Shodno potrebama organizma deponovani pteroilpoliglutamati podležu intracelularnoj hidrolizi do metiliranih pteroilmonoglutamata koji ulaze u enterohepatični ciklus folata (eng. *enterohepatic folate cycle - EHFC*) i sistemsku cirkulaciju (eng. *systemic folate circulation - SFC*) kojom se folati dopremaju

svim ćelijama u organizmu. Na nivou enterohepatičnog ciklusa folata stepen reapsorpcije iznosi oko 99% i samo se 1% iz organizma eliminiše putem fecesa. Bubrezi su regulatorno mesto za reapsorpciju folata iz sistemske cirkulacije. Na nivou epitelnih ćelija proksimalnih tubula reabsorbuje se oko 90% metiliranih pteroilmonoglutamata, a preostalih 10% se izlučuje putem urina (Slika 3) ^(33,34,44).



Slika 3. Resorpcija i homeostaza folata

Adaptirano iz: Medici, V.; Halsted, C. H. Folate, alcohol, and liver disease. *Mol. Nutr. Food Res.* 2013, 57, 596–606. ⁽⁴⁴⁾

1.3 Preporučene vrednosti unosa folata

Budući da su folati esencijalni nutrijenti u organizam se moraju unositi u adekvatnoj količini da bi se zadovoljile metaboličke potrebe, izbegao deficit i njegove posledice po zdravlje. Preporuke o unosu nutrijenata u velikoj meri zavise od interpretacije najboljih

dostupnih naučnih saznanja, pa postoje i određene razlike u referentnim vrednostima iz različitih izvora.

Američki Institut za medicinu, Nutricioni odbor Nacionalne akademije nauka, utvrdio je standarde za adekvatan unos svih nutrijenata. Ti standardi referentnog dijetetskog unosa (Dietary Reference Intakes - DRIs) obuhvataju set referentnih vrednosti zasnovanih na vrednovanju procenjenih prosečnih potreba (Estimated Average Requirements - EARs), preporučenog dnevnog unosa (Recommended Dietary Allowances - RDAs), adekvatnog unosa (Adequate Intake - AI) i podnošljive gornje granice dozvoljenog unosa (Tolerable Upper Intake Levels - ULs) ⁽⁴¹⁾

- RDA vrednost označava prosečne dnevne unos nutrijenta kojim se zadovoljavaju potrebe gotovo svih (97-98%) zdravih individua koje pripadaju specifičnoj populacionoj grupi na osnovu starosti i pola.
- EAR vrednost predstavlja dnevni unos nutrijenta za koji je procenjeno da zadovoljava potrebe polovine zdravih pojedinaca u određenoj populacionoj grupi.
- UL vrednost se odnosi na najveću količinu dnevnog unosa određenog nutrijenta za koju se procenjuje da neće uticati štetno na zdravlje ljudi.

Pomenuti Američki Institut za medicinu 1998. godine je sproveo reviziju preporuka u vezi sa unosom folata na osnovu detaljne analize dostupnih podataka iz sprovedenih i publikovanih relevantnih istraživanja o unosu i statusu folata, ulozi ovog vitamina u fiziološkim i patološkim procesima, pokazanim korelacijama sa zdravstvenim ishodima i to za sve starosne grupe za oba pola i uz posebno razmatranje potreba u stanjima trudnoće i dojenja. Dodatno, u procesu procena potreba u obzir su uzete i informacije o biološkoj raspoloživosti folata iz različitih izvora, uticaju interakcija sa drugim komponentama hrane i lekovima, kao i genetskoj varijabilnosti ^(14,41).

Na zahtev Evropske komisije (European Commission), Panel za dijetetske proizvode, ishranu i alergije (Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies -NDA) Evropskog regulatornog tela za bezbednost hrane (EFSA- European Food Safety Authority) izdao je

naučno mišljenje o preporučenim vrednostima za unos nutrijenata (Dietary Reference Values - DRVs) uključujući i folate. Tom prilikom analizirane su preporuke različitih organizacija i utvrđene tzv. Average Requirement (AR) i Population Reference Intakes (PRI) vrednosti. AR vrednost predstavlja onaj nivo unosa nutrijenta koji zadovoljava potrebe polovine individua u određenoj grupi zdravih ljudi, a PRI onaj nivo kojim se zadovoljavaju potrebe svih zdravih pojedinaca iz definisane grupe (Tabela 2) ^(21,45).

Tabela 2. Dijetarne referentne vrednosti za folate - Evropska agencija za bezbednost hrane

Populacione grupe	Average Requirement (AR) ($\mu\text{g DFE/day}$)	Population Reference Intakes (PRI) ($\mu\text{g DFE/day}$)
Populacione grupe na osnovu podele po starosti		
1-3 godine	60	80
4-6 godina	90	110
7-10	130	170
11-14	200	260
15-17	250	330
≥ 18	250	330
Posebne populacione grupe specifična fiziološka stanja		
Trudnoća	-	600
Dojenje	380	500

Ekspertske grupe Svetske zdravstvene organizacije (World Health Organization – WHO) i Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO) su 2004. godine, nakon detaljne analize relevantnih literaturnih izvora sprovele reviziju preporučenih vrednosti za unos mikronutrijenata. Tom prilikom su eksperti pomenutih organizacija zaključili da, kada je reč o folatima, vrednosti koje je dao Američki Institut za medicinu, Nutricioni odbor Nacionalne akademije nauka, predstavljaju najbolje procene potreba na osnovu sadašnjih znanja i izrazili saglasnost sa tim podacima. Iz tog razloga, preporučeni dnevni unos nutrijenta (Recommended Nutrient Intake – RNI) za folate predstavlja vrednost analognu RDA vrednosti koju je za različite populacione grupe izdala ova organizacija (Tabela 3) ⁽¹⁴⁾.

Tabela 3. Preporuke o unosu folata za specifične populacione grupe – Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija i Svetska zdravstvena organizacija

Populaciona grupa	EAR ($\mu\text{g DFE/dan}$)	RNI ($\mu\text{g DFE/dan}$)
Odojčad i deca (podela po starosti)		
0-6 meseci	65	80
7-12 meseci	65	80
1-3 godine	120	160
4-6 godina	160	200
7-9 godina	250	300
Adolescenti		
10-18 godina	300	400
Odrasli		
19-65 godina	320	400
65 + godina	320	400
Trudnice	520	600
Dojilje	450	500

1.4 Evaluacija dijetarnog unosa folata

Analiza dijetarnog unosa predstavlja važan element sveobuhvatne procene nutritivnog statusa. Tačna i pouzdana evaluacija dijetarnog unosa i prehrambenih navika, ipak, i dalje predstavlja priličan izazov za istraživače u oblasti nutritivne epidemiologije. Kompleksnost ishrane ljudi i višedimenziona povezanost između dijetarnih faktora i zdravlja moraju se s posebnom pažnjom razmatrati pri analizi i interpretaciji podataka o konzumaciji hrane.

Postoje brojni pristupi u evaluaciji dijetarnog unosa, a izbor najpodesnijeg zavisi od čitavog niza faktora kao što su: postavljena hipoteza i definisani ciljevi istraživanja, potreban nivo tačnosti i preciznosti procene, karakteristike populacije od interesa, željeni tip podataka, kao i dostupna istraživačka infrastruktura, finansijski i kadrovski resursi ^(46,47). Instrumenti za procenu dijetarnog unosa međusobno se razlikuju prema obzervacionoj perspektivi, vremenskom okviru, načinu sprovođenja odnosno implementacije, pristupu proceni veličina porcije tj. konzumiranih količina hrane i napitaka, kao načinu konverzije podataka o konzumaciji u nutritivne komponente ⁽⁴⁸⁾. Uopšteno govoreći, metode za procenu konzumacije hrane mogu se realizovati na nivou pojedinca, domaćinstva, neke druge

organizovane grupe ili na nacionalnom nivou ⁽⁴⁹⁾ i za izbor odgovarajuće strategije izuzetno je važno da ciljevi studije budu jasno definisani i precizno artikulisani. Sve metode za dijetarnu procenu imaju određene prednosti i ograničenja, a poznavanje njihove prirode i obima omogućava bolju, naučno-zasnovanu interpretaciju rezultata.

Kada se razmatra bazični metodološki pristup, studije za evaluaciju nutritivnog unosa mogu se klasifikovati na direktne i indirektne. Indirektne metode za procenu potrošnje hrane na nivou države predstavljaju tzv. Balanse stanja hrane (*Food Balance Sheets*) ^(50,51), a na nivou domaćinstva Ankete o potrošnji domaćinstva (*Household Budget Surveys*) ⁽⁵²⁾. Direktne metode mogu biti zasnovane na objektivnoj obzervaciji tj. posmatranju konzumacije ili na subjektivnom iskazu ispitanika. Objektivne metode obuhvataju prisup Analize duplikata konzumiranih porcija (*Duplicate Diet studies*) i Beleške o konzumaciji koje vode obučeni istraživači (*Food consumption record by a trained reserach staff*). Subjektivne metode se dalje mogu podeliti na prospektivne, u kojima se podaci beleže u trenutku konzumacije, i retrospektivne, kojima se evaluira ishrana iz prošlosti. Primeri prospektivnih metoda su Dnevnici ishrane (*Food records*), i mogu se odnositi na vremenske periode različite dužine u zavisnosti od ciljeva istraživanja i potrebnog nivoa tačnosti procene. Retrospektivne metode se mogu odnositi na skorašnju konzumaciju (Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane – *24h dietary recall*) ili na uobičajenu ishranu tokom dužeg vremenskog perioda (Upitnik o učestalosti konzumacije hrane – *Food Frequency Questionnaire*) ^(53,54).

Kvantitativni podaci o konzumaciji hrane mogu se konvertovati u informacije o nutritivnom unosu samo ukoliko su dostupne informacije o nutritivnoj kompoziciji tj. sastavu namirnica. Oni mogu biti generisani analizom duplikata konzumiranih porcija ili preuzeti iz baza podataka o sastavu namirnica ⁽⁵⁵⁾.

Pregled direktnih subjektivnih metoda koje se mogu primeniti u okviru procene nutritivnog unosa, pa samim tim i za evaluaciju dijetarnog unosa folata, dat je u nastavku.

1.4.1 Direktne prospektivne subjektivne metode za procenu dijetarnog unosa

Dnevnici ishrane

Ovaj metod podrazumeva da ispitanici samostalno beleže podatke o konzumaciji hrane i pića tokom definisanog vremenskog perioda. Ne oslanja se na memoriju ispitanika, budući da se evidencija realizuje u trenutku konzumacije. Da bi se obezbedila zadovoljavajuća tačnost podataka i potreban nivo detaljnosti ispitanici prethodno moraju biti obučeni. Važno je obezbediti detaljne pisane i/ili usmene instrukcije o vođenju dnevnika ishrane uz sva dodatna razjašnjenja, pomoć i savete istraživačkog tima. Po završetku evidencionog perioda, korisno je da istraživači pregledaju upitnik sa ispitanicima, kako bi se proverilo da li su svi podaci adekvatno zabeleženi, razjasnile eventualne nedoumice i potvrdila prihvatljivost kvaliteta prikupljenih informacija ^(56,57).

Najčešće se beleže naziv namirnice/jela, način pripreme/obrade, konzumirana količina, tržišno ime tj. naziv proizvođača komercijalno dostupnih proizvoda, recepture kompozitnih jela, i drugi podaci koji su predviđeni shodno istraživačkim pitanjima i ciljevima istraživanja ^(48,54). Podaci o vremenu konzumacije i lokaciji ispitanika, eventualnim paralelnim aktivnostima i prisustvu drugih individua, mogu biti korisni za interpretaciju socijalnog konteksta i obrazaca ishrane ispitanika. Dnevnici ishrane su otvoreni upitnici kod kojih ne postoji ograničenje na nivou specifičnosti i obima informacija koje se beleže. Kao visoko fleksibilan instrument može se prilagoditi raznovrsnim populacionim grupama, sa različitim navikama u ishrani.

Na osnovu načina na koji se vrši kvantifikacija konzumiranih količina dnevnici ishrane se mogu podeliti na one koji su zasnovani na merenju (*Weighted food records*) i one koji se baziraju na samostalnoj proceni ispitanika (*Estimated food records*).

U slučaju Dnevnika ishrane zasnovanih na proceni, ispitanici beleže procenjene veličine porcija koristeći standardne mere/normative za domaćinstva, prirodne jedinice,

podatke o masi/zapremeni sa ambalaže komercijalnih proizvoda i pomoćne instrumente za procenu veličina porcija. Kod Dnevnika ishrane zasnovanih na merenju, potrebno je da ispitanici mere i evidentiraju podatke o masi ili zapremeni hrane i napitaka pre konzumacije, kao i eventualno zaostale količine nakon obroka. Na taj način se dobijaju precizniji podaci, ali uz veće troškove i opterećenje ispitanika. Oba pristupa zahtevaju pismenost ispitanika, numeričke veštine, obuku pre sprovođenja istraživanja i visok stepen motivacije učesnika. Rizik pri sprovođenju studija uz primenu Dnevnika ishrane je da uobičajen način ishrane može biti izmenjen namerno ili nenamerno od strane ispitanika zbog zahtevanog procesa evidencije i /ili pod uticajem samo-procene. Fenomen uticaja vođenja dnevnika na dijetarno ponašanje ispitanika naziva se reaktivnost ^(46,58). Drugi faktor koji može da kompromituje kvalitet i istinitost podataka je aderenza ispitanika u odnosu na protokol. Naime, sa produžavanjem trajanja studije smanjuje se motivacija i razvija zamor kod učesnika, a povećava i verovatnoća retrospektivnog pristupa u evidenciji konzumirane hrane ^(53,59).

S ciljem prevazilaženja ograničenja konzervativnog pristupa sa anketama u pisanoj formi, razvijen je čitav spektar savremenih rešenja zasnovanih na primeni kompjuterskih, internet, telekomunikacionih i ilustrativnih tehnika. Smatra se da primena inovativnih tehnologija ima veliki potencijal za unapređenje tačnosti, olakšavanje izvođenja, smanjenje opterećenja ispitanika i standardizaciju prikupljanja podataka uz obezbeđivanje konzistentnosti njihovog formata. Ipak, osavremenjivanje metode podrazumeva i značajno ulaganje u softversku i hardversku logistiku, ispitanici i istraživači moraju biti obučeni za primenu inovativnih tehnoloških rešenja, a nema ni eradikacije pojedinih grešaka uzrokovanih subjektivnim pristupom u proceni ^(60,61).

1.4.2 Direktne retrospektivne subjektivne metode za procenu dijetarnog unosa

Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane

Ovaj retrospektivni metod za evaluaciju nutritivnog unosa podrazumeva sprovođenje intervjua tokom kojih ispitanici daju izveštaj o kompletnoj konzumaciji hrane i

napitaka u prethodna 24h, odnosno, tokom prethodnog dana. Intervju je najčešće strukturisan i sprovodi se prema unapred utvrđenom, pre-testiranom standardizovanom protokolu. Beleže se informacije o nazivu/vrsti namirnice/jela, primenjenom načinu pripreme/obrade, recepture složenih jela, kao i veličine porcija odnosno količina konzumirane hrane. Prateći kontekstualni podaci koji se odnose na prostorne i vremenske determinante, društvo i paralelne aktivnosti tokom obroka, kao i poreklo namirnica mogu doprineti sveobuhvatnijoj interpretaciji dijetarnih informacija. U situacijama kada ispitanici ne pružaju dovoljno detaljne i precizne informacije, odgovornost istraživača je da primenom odgovarajućih ispitivačkih tehnika prikupe potrebne podatke. Dopunska pitanja i podsećanje ispitanika moraju se sprovoditi na neutralan, neosuđujuć i nesugestivan način bez ikakvog impliciranja očekivanog, tačnog ili poželjnog odgovora ^(46,62,63).

Potencijalni izvori grešaka kod dvadesetčetvoročasovnih (24h) anketa ishrane su istraživač, ispitanik i sam metod. Upravo interakcije u ovom triangulacionom sistemu definišu kvalitet podataka i validnost procene ⁽⁶⁴⁾. Intenzivna i detaljna obuka istraživača uz dobro razvijen sistem kontrole kvaliteta su od kritične važnosti za osiguravanje izveštaja zadovoljavajuće tačnosti i kompletnosti.

Glavni problemi vezani za prikupljanje podataka o konzumaciji hrane putem 24h anketa ishrane odnose se na ograničenja vezana za memoriju ispitanika, socijalno poželjno odgovaranje (eng. *social desirability bias*) i sposobnost ispitanika da daju dovoljno deskriptivan i precizan izveštaj. Problemi vezani za prisećanje mogu dovesti do povećane ili umanjene procene dijetarnog unosa u zavisnosti od tipa greške: greške propusta (eng. *error of omission*) nastaju kada ispitanici iz izveštaja izostave neku namirnicu, jelo ili napitak koji su zapravo konzumirali tokom analiziranog perioda, dok greška pogrešne akcije (eng. *error of comission*) nastaje kada se u izveštaju nađu stavke koje u realnosti nisu konzumirali ^(65,66). Pol, starost, nivo obrazovanja, inteligencija, raspoloženje, okruženje u kome se sprovodi intervju, etnička pripadnost, konzistentnost dijetarnih navika i aktuelan nutritivni status su faktori za koje je utvrđeno da utiču na sposobnost prisećanja i tačnost izveštaja ^(66,67). Dobro obučeni i iskusni ispitivači, lista često zaboravljenih namirnica, povezivanje obroka sa uobičajenim dnevnim aktivnostima za stimulisanje prisećanja, i

prijatan tok intervjua bez požurivanja mogu doprineti redukciji grešaka koje izazviju memorijska ograničenja ^(46,54).

S ciljem da se unapredi tačnost podataka i olakša procedura evidencije, u istraživanjima baziranim na primeni 24h anketa ishrane često se primenjuje tzv. tehnika ponovljenih prelaza (eng. *multiple-pass technique*). Ovaj pristup sprovođenju i organizaciji intervjua, zasnovan na kognitivnim principima i praktičnom iskustvu, podrazumeva sekvencijalno ispunjavanje upitnika po etapama, prema unapred definisanom obrascu. Iako specifični protokoli mogu varirati prema broju etapa i njihovom sadržaju, bazični elementi ove tehnike su uvek isti. Prvo se od ispitanika traži da, bez prekidanja ili bilo kakve druge intervencije istraživača, da kompletan izveštaj o konzumiranoj hrani i napicima tokom prethodnog dana ne nužno prateći hronološki red. Zatim, istraživači serijom pripremljenih pitanja utvrđuju da li su neke namirnice zaboravljene ili iz drugih razloga izostavljene i prikupljaju dodatne detalje važne za procenu dijetarnog unosa, kao što su redosled i vreme obroka i kvantitativna procena konzumiranih količina. Konačno, u finalnoj etapi, istraživač sa ispitanikom pregleda načinjen zapis i shodno potrebama, beleži relevantne izmene i/ili dopune ^(55,68).

Kvantifikacija veličine porcija predstavlja poseban izazov u realizaciji 24h anketa ishrane. Naime, složeni kognitivni procesi utiču na sposobnost ispitanika da se, sa zadovoljavajućom preciznošću, prisete konzumirane količine. Zato se koriste brojni dvodimenzionalni (fotografije, lenjiri, ilustracije, crteži, dvodimenzionalni koordinacioni sistemi i linijske mreže) i trodimenzionalni (modeli hrane, standardne posude za merenje, kuhinjski pribor definisanih dimenzija) pomoćni instrumenti za olakšavanje procene veličine porcija (eng. *portion size estimation aids – PSEA*) ⁽⁶⁹⁾.

Zbog visokog stepena varijabilnosti u dijetarnom unosu na dnevnom nivou, smatra se da samo jedna 24h anketa ishrane nije dovoljno reprezentativna za procenu uobičajene ishrane neinstitucionalizovanih individua ⁽⁴⁶⁾. Zato je neophodno sprovesti tzv. ponovljene ankete ishrane, pri čemu broj potrebnih anketa, koji garantuje pouzdanu analizu ishrane,

zavisi od istraživačkog pitanja, uzorka koji je obuhvaćen studijom i stepena varijabilnosti unosa namirnica ili nutrijenata od interesa.

Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica

Upitnici o učestalosti namirnica (eng. *Food Frequency Questionnaires - FFQ*) su instrumenti koji se često primenjuju u epidemiološkim studijama, a dizajnirani su za procenu uobičajenog dijetarnog unosa tokom definisanog, dužeg vremenskog perioda. Postoje različite vrste u odnosu na listu namirnica, vremenski okvir koji razmatraju, pouđene vremenske intervale za određivanje učestalosti konzumacije, način administracije i opcije za kvantifikovanje veličine porcija ⁽⁷⁰⁾.

Dva osnovna elementa svakog FFQ-a su: unapred definisana lista namirnica i sekcija za određivanje učestalosti konzumacije navedenih namirnica. Lista namirnica treba da bude jasna, koncizna, sistematično strukturisana i pažljivo sastavljena u skladu sa ciljevima istraživanja. Može biti sačinjena od velikog braja namirnica (tzv. ekstenzivna), da bi se omogućila sveobuhvatna nutritivna procena, ili fokusirana na određene nutrijente, namirnice, grupe namirnica ili izloženost dijetarnim faktorima koji su od značaja za određenu bolest ili stanje ^(53,54,71). Navedene namirnice treba da odgovaraju navikama u ishrani ispitivane populacije i treba da ih relativno često konzumira značajan broj pripadnika populacije od interesa. Dodatno, odabrane namirnice treba da budu dobri izvori nutritivnih elemenata na koji je usmerena istraživačka pažnja i treba da zadovolje kriterijum diskriminativnosti tj. treba da značajno doprinose varijabilnosti unosa među individuama ⁽⁴⁶⁾. Lista namirnica koja ispunjava sve navedene zahteve smatra se informativnom. Postoje različiti pristupi u formiranju kulturološki adekvatne, informativne liste. Odabir potencijalno relevantnih stavki upitnika može biti zasnovan na prethodno sprovedenim studijama, konsultacijama sa ekspertima, podacima iz baza podataka o sastavu namirnica, kao i pilot studijama u kojima su primenjeni upitnici otvorenog tipa (24h ankete ishrane ili dnevnicu ishrane). Obično se navedene metode koriste za kreiranje inicijalne/preliminarne liste, koja se potom metodično redukuje. Iako upitnik sa velikim brojem namirnica

obezbeđuje detaljan pregled nutritivnog unosa i navika u ishrani, takav instrument uzrokuje veće opterećenje ispitanika izazivajući iscrpljenost i dosadu, koje mogu negativno uticati na tačnost odgovora ispitanika, njihovu motivisanost i spremnost da odgovore na kompletan upitnik.

Sekcija upitnika koja se odnosi na definisanje učestalosti konzumacije najčešće ima format zatvorenog pitanja sa više ponuđenih odgovara, pri čemu broj opcija tj. vremenskih intervala varira od 5 do 10. Alternativno, ispitanicima se može ponuditi mogućnost da samostalno definišu učestalost konzumacije kroz pitanje otvorenog tipa.

U zavisnosti od toga da li je kvantifikacija veličina porcije uključena u strukturu upitnika i na koji način, Upitnici o učestalosti konzumacije namirnica mogu se klasifikovati na kvalitativne, semikvantitativne i kvantitativne. Kvalitativni upitnici (tzv. *Food Propensity Questionnaires*) ne predviđaju prikupljanje informacija o količini konzumirane hrane, te pružaju samo deskriptivne podatke o navikama u ishrani. Kod semikvantitativnih upitnika predefinisana veličina porcije je inkorporirana u pitanje o učestalosti konzumiranja i takvi upitnici su naročito podesni za namirnice koje se koriste u obliku prirodnih jedinica ili standardnih mera (npr. jabuka, jaje, šolja kafe, parče hleba i sl.). Kod ovog tipa upitnika se od ispitanika očekuje da dupliraju učestalost konzumacije koju prijavljuju u slučaju da obično konzumiraju porciju koja je duplo veća od one koja je navedena u pitanju. To dovodi do nemogućnosti procene prosečne veličine porcije, što se smatra i glavnim nedostatkom ove podvrste FFQ-a. Konačno, kvantitativni upitnici sadrže dodatno pitanje za svaku navedenu stavku, tako da se registruje uobičajena porcija i učestalost konzumacije. Istraživači mogu da definišu srednju veličinu porcije, pa da od ispitanika traže kvantifikaciju porcije zasnovanu na primeni kategorijskih deskriptora (srednja/mala/veća porcija). Druga mogućnost podrazumeva uključivanje ilustracija ili fotografija koje predstavljaju različite veličine porcija, pri čemu ispitanici treba da među ponuđenima odaberu onu koja najbolje odgovara njihovim dijetarnim navikama. Konačno, moguće je izjašnjavanje ispitanika o uobičajeno konzumiranoj količini ostvariti kroz pitanja otvorenog tipa. Takav pristup nudi veću fleksibilnost i unapređenu preciznost, ali može biti komplikovan za kodiranje i obradu upitnika ⁽⁷²⁾.

Prema načinu sprovođenja odnosno administracije Upitnici o učestalosti konzumiranja namirnica mogu se podeliti na one koji su namenjeni za samostalno popunjavanje (eng. *self-administered*) uz primenu papirne ili elektronske forme i one koji se popunjavaju u prisustvu i uz asistenciju ispitivača (eng. *interviewer-administered*). Iako uključivanje ispitivača značajno povećava troškove istraživanja u nekim situacijama je neophodno (npr. u populacionim grupama problematične pismenosti i ograničenih numeričkih veština). U poređenju sa 24h anketama ishrane, iako potrebna, obuka ispitivača je znatno manje zahtevna, a standardizovana lista namirnica doprinosi redukciji varijabilnosti u radu između njih ⁽⁵⁴⁾.

Primena FFQ-a, pogodna za istraživanja na nivou velikih uzoraka, obezbeđuje uvid u dugoročnu izloženost dijetarnim faktorima uz relativno male troškove, nizak stepen opterećenja istraživača i ispitanika i uz odsustvo rizika od uticaja reaktivnosti na dobijene rezultate. Glavni nedostatak ove metode je značajan rizik od ispoljavanja inherentne greške instrumenta. Na kvalitet i vrednost dobijenih podataka negativan uticaj mogu ispoljiti neadekvatno formirana lista namirnica, oslanjanje na memoriju ispitanika, kompleksnost kognitivnih procesa potrebnih za procenu i mogućnost greške uzrokovane pristrasnim izveštavanjem ⁽⁷³⁾.

Važno je naglastiti i da ne postoji univerzalni FFQ koji bi bio podesan za primenu u svim populacionim grupama i za sva istraživačka pitanja. Kako na ishranu utiču demografski, socioekonomski, geografski, klimatski, kulturološki i faktori zdravstvenog stanja FFQ mora biti kreiran ili adaptiran u skladu sa karakteristikama određene populacije ispitanika ⁽⁷⁴⁾. Dodatno, da bi se na adekvatan način interpretirali podaci dobijeni primenom FFQ-a, neophodno je proveriti validnost upitnika tj. utvrditi vezu između uobičajenog dijetarnog unosa koji ispitanici prijavljuju putem FFQ-a i realnog stanja ⁽⁷⁵⁾.

1.5 Biohemijski pokazatelji statusa folata

Na status folata u organizmu utiče čitav niz faktora kao što su: unos ishranom tj. dijetarna ekspozicija, biološki faktori (npr. aktuelni status vitamina B₆ i B₁₂, nivo homocisteina)⁽⁷⁶⁾, genetski faktori (npr. polimorfizam gena koji kodira enzim metilentetrahidrofolat reduktazu - MTHFR 677C→T)⁽⁷⁷⁾, fiziološki status (npr. trudnoća, dojenje)⁽⁷⁸⁾, eventualno prisutni komorbiditeti (npr. malarija)⁽⁷⁹⁾, primena pojedinih lekova i faktori životnog stila (npr. primena dodataka ishrani, pušenje, fizička aktivnost, konzumacija alkohola)^(80,81).

Kao prioritetni biomarkeri statusa folata označeni su⁽⁸²⁾:

- Koncentracija folata u serumu
- Koncentracija folata u eritrocitima
- Koncentracija homocisteina u plazmi

Koncentracija folata u serumu predstavlja indikator akutnog statusa folata i podleže fluktuacijama shodno tranzitornim promenama na nivou unosa. Pojedinačna analiza ne može obezbediti diferencijaciju između privremene, skorašnje redukcije unosa i stanja hronične deficijencije. Ipak, ponovljena merenja sprovedena na nivou pojedinca tokom perioda od mesec dana, koja su rezultovala vrednostima ispod preporučenih, smatraju se indikativnim za utvrđivanje deficita^(80,83). Pokazano je da koncentracija folata u serumu dobro reaguje na dijetarnu intervenciju, pri čemu je odgovor nešto intenzivniji u slučaju folne kiseline u odnosu na folate iz prirodnih izvora⁽⁸⁴⁾. Budući da su folati najmanje stabilni u celoj grupi B vitamina, pažljivo rukovanje uzorcima i primena antioksidanasa su neophodne mere za očuvanje integriteta analita. Takođe, posebno je važno prevenirati *in vitro* hemolizu, jer ona može da ugrozi tačnost procene. Naime, kako je koncentracija folata u serumu niža od one u eritrocitima, ukoliko dođe do raspada crvenih krvnih ćelija i izlivanja njihovog sadržaja, vrednosti serumske koncentracije biće lažno povišene⁽⁸⁰⁾. Uzimajući u obzir makrocitnu anemiju kao hematološki indikator, Svetska zdravstvena organizacija definisala je koncentracije folata u serumu ispod 6.8 nmol/L indikativnim za

deficijenciju, vrednosti između 6.8 i 13.4 nmol/L za moguću deficijenciju, a koncentracije između 13.5 i 45.3 nmol/L označene su kao normalne tj. adekvatne ⁽⁸³⁾.

Koncentracija folata u eritrocitima smatra se dobrim pokazateljem dugoročnog statusa. Naime, folati se u crvene krvne ćelije inkorporiraju tokom eritropoeze tj. formiranja u kostnoj srži i nivo ostaje relativno konstantan tokom celokupnog životnog veka eritrocita (oko 120 dana). Utvrđen je visok stepen korelacije između koncentracije folata u eritrocitima i uobičajenog dijetarnog unosa ovog nutrijenta kada je on izražen primenom dijetarnih ekvivalenata folata - DFE. Navedeni parametar predstavlja i pouzdani indikator zaliha folata budući da koncentracija u eritrocitima dobro korelira sa nivoom folata u jetri (u kojoj je uskladišteno oko 50% ukupnog sadržaja folata u organizmu) ⁽⁸⁰⁾. Određivanje koncentracije folata u eritrocitima još je složenije u odnosu na određivanje sadržaja u serumu, jer se poliglutamatne forme vitamina moraju konvertovati u analoge sa jednom glutaminskom reziduum pre analize ^(80,85). Uzimajući u obzir koncentraciju homocisteina kao metabolički faktor, eksperti Svetske zdravstvene organizacije su 2005.godine utvrdili da je granična vrednost koncentracije folata u eritrocitima za definisanje deficijencije 340 nmol/L. Vrednosti ispod navedene smatrale su se indikativnim za deficit folata i to za sve starosne grupe. Ipak, bilo je naglašeno da ova granična vrednost može biti neadekvatna za obezbeđivanje optimalne prevencije defekata nervne cevi i utvrđivanje deficita tokom trudnoće (jer se tokom drugog stanja generalno beleži pad nivoa biomarkera folata). Zato su 2015.godine preporuke revidirane i istaknuto je da koncentracija folata u eritrocitima kod žena reproduktivne dobi treba da bude preko 400 ng/ml tj. 906 nmol/L da bi se osigurao najviši stepen zaštite od nastanka kongenitalnih anomalija tipa defekata nervne cevi ^(83,86,87).

Koncentracija homocisteina u plazmi predstavlja osetljiv funkcionalni biohemijski pokazatelj statusa folata. Kompromitovan status tj. deficit folata uvek dovodi do porasta nivoa homocisteina u plazmi, budući da su folati neophodni kao donori metil grupe u procesu remetilacije homocisteina do metionina. Ipak, kako na ovu reakciju utiču i drugi faktori, koncentracija homocisteina se ne smatra specifičnim biomarkerom statusa folata. Na ovaj parametar utiču i status drugih vitamina B grupe, primena lekova, pol, starost, bubrežna funkcija i genetski faktori. Homocistein iz plazme je stabilan analit, pod uslovom

da se separacija plazme od eritrocita sprovede u roku od 1h od uzorkovanja, odnosno u periodu kraćem od 8h, ukoliko je u međuvremenu uzorak pune krvi skladišten na ledu.

Razvoj laboratorijskih metoda za određivanje statusa folata datira iz 50-ih godina XX veka ⁽⁸⁸⁾. Za određivanje statusa folata danas su dostupne raznovrsne tehnike, kao što su mikrobiološke metode, eseji zasnovani na vezivanju proteina (*protein-binding assays-PBA*) i hromatografske tehnike (npr. tečna hromatografija visokog pritiska kuplovana sa različitim detektorima, kao što je maseni spektrometar – *high-performance liquid chromatography-mass spectrometry HPLC-MS*) ⁽⁸⁵⁾. Sve navedene metode imaju određene prednosti i nedostatke, a odabir najpodesnije treba da bude zasnovan na ciljevima analize i dostupnim resursima (finansijskim, vremenskim, instrumentalnim i kadrovskim). Na nivou kliničkih laboratorija gde je imperativ brza analiza velikog broja uzoraka, uz primenu gotovih reagenasa bez specijalne obuke analitičara, najpodesnija je grupa metoda zasnovanih na vezivanju proteina. Ipak, zbog činjenice da proizvođači kitova odnosno kompleta reagenasa mogu uvoditi promene kroz procese reformulacije i rekalkibracije, ove metode nisu pogodne za dugoročno praćenje trendova statusa folata u populaciji. Za te potrebe, adekvatnija je primena stabilnih tehnika, gde se kontrola i verifikacija performansi metode može sprovoditi u okviru same laboratorije (tzv. *in-house verification*). Ovaj kriterijum zadovoljavaju i mikrobiološke i hromatografske metode, a izbor među njima treba napraviti na osnovu opremljenosti laboratorije, obučenosti kadrova, dostupnog volumena uzorka i toga da li postoji zainteresovanost za sadržaj ukupnih folata, ili je potrebna diferencijacija različitih formi i njihova pojedinačna determinacija ⁽⁸⁰⁾. Sažet pregled prednosti i nedostataka navedenih metoda da je u Tabeli 4 ^(80,83,85).

Tabela 4. Pregled metoda za određivanje folata – prednosti i nedostaci (80,83,85)

Metod	Prednosti	Nedostaci
Mikrobiološki metod za određivanje ukupnih folata	Velika osetljivost; potrebna mala zapremina uzorka ($\approx 50\mu\text{l}$)	Manuelna, radno zahtevna analiza
	Registruje biološki aktivne forme folata, a isključuje one bez vitaminske aktivnosti	Dug vremenski period do dobijanja rezultata
	Relativno jeftina tehnika; manji instrumentalni zahtevi	Preciznost je relativno niska - neophodne replikacije analize
	Mogućnost <i>in-house</i> kontrole performansi metode	Metoda relativno malog linearnog opsega - neophodna višestruka razblaženja
	Moguća primena i suvih uzoraka kapi krvi	Potencijalni problem predstavlja kontaminacija
		Inhibitorno delovanje antibiotika i antifolatnih agenasa
Metode zasnovane na vezivanju proteina za određivanje ukupnih folata	Mogućnost obrade velikog broja uzoraka u kratkom vremenskom periodu	Različite forme folata imaju različit afinitet vezivanja za proteine
	Dostupnost komercijalnih kitova (kompleta reagenasa)	Tačnost može biti kompromitovana u uslovima analize smeše različitih formi folata
	Redukovan angažman analitičkog osoblja	Metode ograničenog linearnog opsega
	Dobra preciznost	Moguć uticaj matriksa na performanse analize razblaženih uzoraka
		Nemogućnost kontrole varijabilnosti između različitih proizvođačkih serija kitova, kao i u slučaju reformulacije/rekalibracije
Hromatografske tehnike kuplovane sa tandemskom masenom spektroskopijom za određivanje vitamera folata	Mogućnost diferencijacije i određivanja folatnih vitamera	Neophodna skupa oprema, iskusni i dobro obučeni analitičari i redovni servisi instrumenata
	Dobra preciznost	Manuelna, radno zahtevna analiza
	Visok stepen selektivnosti i specifičnosti	Kompleksna priprema uzoraka
	Dobra osetljivost	Kompleksna interpretacija rezultata
	Mogućnost <i>in-house</i> kontrole performansi metode	Za određivanje sadržaja folata u eritrocitima neophodna prethodna konverzija poliglutamatnih u monoglutamatne oblike Za određivanje ukupnih folata potrebno sumirati sadržaj pojedinačno određenih vitamera

1.6 Deficijencija folata – rizične grupe i zdravstvene posledice

1.6.1 Populacione grupe u riziku od deficita folata

Do deficita folata može doći pod različitim okolnostima kao što su nedovoljan unos putem redovne ishrane, povećane potrebe u određenim stanjima, malapsorpcija i neki patološki procesi.

Ograničena ishrana u okviru koje se ne unose dovoljne količine namirnica bogatih folatima jedan je od prvih prepoznatih uzroka deficita ovog vitamina. Do takve situacije najčešće dolazi kod osoba slabijeg socioekonomskog statusa, starih lica, pacijenata na parenteralnoj ishrani i alkoholičara.

Trudnoća i dojenje su periodi koji se razmatraju s posebnom pažnjom kada je reč o definisanju preporuka o unosu mikronutrijenata. To su anabolička stanja tokom kojih se, u hormonski regulisanim procesima, nutrijenti preusmeravaju u tkiva majke specijalizovana za reproduktivnu funkciju kao što su placenta i mlečne žlezde i dalje sprovodi njihov prenos u fetus ili odojče ^(89,90). Tokom trudnoće dolazi do intenziviranja metaboličkih procesa i reakcija uključenih u deobu ćelija u kojima je neophodno učešće folata. Naime, pored razvoja samog fetusa dolazi do uvećanja materice, razvoja placente i povećanja volumena krvi majke. Smatra se da se potrebe za folatima u trudnoći povećavaju 5-10 puta i upravo je to razlog zašto su žene u drugom stanju vulnerabilna populacija sa povećanim rizikom za razvoj deficijencije ⁽⁹¹⁾. Poseban mehanizam za aktivni transport folata kroz placentu razvija se tokom prvog trimestra trudnoće kako bi se zadovoljile potrebe za razvoj fetusa, pa je utvrđeno da je 2-4 puta veća koncentracija folata u fetalnoj krvi u odnosu na krv majke ⁽⁹²⁾. Sa druge strane, koncentracija folata u eritrocitima i serumu majke tokom trudnoće konstantno opada i to do nivoa koji približno iznosi 50% vrednosti pre trudnoće ⁽⁹³⁾. Postoji više razloga za nastanak ovakvih promena. Naime, to se dešava usled realnog povećanja potreba, smanjenja apsorpcije, intenziviranja katabolizma folata, neadekvatnog unosa kao i prirodnih fizioloških mehanizama kojima se organizam prilagođava trudnoći kao što su hemodilucija uzrokovana povećanjem intravaskularnog volumena majke,

hormonske i promene na nivou renalne ekskretorne funkcije ^(93,94). Visoka koncentracija folata u pupčanoj vrpici održava se čak i kod trudnica sa neadekvatnim unosom ovog vitamina na račun zaliha iz organizma majke što ih čini posebno podložnim za razvoj karakterističnih simptoma deficita ⁽²¹⁾. Smatra se da postoji korelacija između neadekvatnog unosa i statusa folata majke i određenih negativnih ishoda trudnoće uključujući nisku telesnu masu novorođenčeta, abrupciju placente, rizik od spontanog pobačaja, razvoj kongenitalnih anomalija i defekte nervne cevi ^(89,91,95–100).

Ukoliko su ishrana majke i rezerve hranljivih materija adekvatni, u prvih šest meseci majčino mleko je dovoljno kao jedini izvor hranljivih materija za odojče. Tokom perioda laktacije mlečne žlezde imaju metabolički prioritet kada je reč o nutrijentima i to često na račun rezervi iz organizma dojlja. Telesna masa odojčadi se duplira u prvih 4-6 postpartalnih meseci u odnosu na masu na rođenju akumuliranu tokom 9 meseci trudnoće, pa se procenjuje da je četvoromesečna sekrecija mleka ekvivalentna ukupnom energetsom trošku trudnoće ⁽⁸⁹⁾. Pri definisanju preporuka o unosu folata za dojlje primenjuje se kalkulacija kojom se sumira unos folata koji je neophodan da nadomesti količinu sekretovanu u mleko i količina kojom se održava adekvatan status kod žena koje ne doje ⁽⁴¹⁾. U humanom mleku folati su vezani za tzv. folat-vezujuće proteine ⁽¹⁰¹⁾. Upravo prisustvo ovih proteina u tkivu mlečnih žlezda olakšava preuzimanje folata iz cirkulacije dojlja, pa je pokazano da je koncentracija ovog vitamina u mleku 5-10 puta veća nego u plazmi majki ^(21,102). Dodatno, pomenuti proteini stimulišu resorpciju folata kod odojčadi i štite ih od intestinalne degradacije ^(103,104). Veliki udeo folata u humanom mleku je u formi poliglutamata sa ≥ 4 glutamatne jedinice. Dominantno su u redukovanoj formi, a oko 20-40% ukupno prisutnih folata predstavlja 5-metiltetrahidrofolat. Kako je folat u plazmi dominantno u obliku 5-metiltetrahidrofolata, prisustvo drugih formi vitamina sa više glutaminskih rezidua ukazuje da mamarne epitelne ćelije imaju sposobnost interkonverzije folata i sinteze poliglutamata. U samom mleku je prisutna folat konjugaza, ali pomenuti enzim karakteriše svega 5% aktivnosti analoga iz plazme, pa njegovo delovanje nije dovoljno za uspešno odvijanje hidrolize endogenih poliglutamata ^(102,105–107). Koncentracija folata u sekretovanom mleku održava se na relativno konstantnom nivou bez obzira na unos

folata kod dojilje osim u slučajevima teške deficijencije ovog mikronutrijenta ^(108,109). To ukazuje da mlečne žlezde imaju prioritet pri preuzimanju folata u odnosu na hematopoezno tkivo. Tako se reguliše koncentracija folata u mleku kojom će biti zadovoljene potrebe odojčadi čak i ako se time ugrožava dobrobit majke ⁽⁸⁹⁾. Na osnovu sprovedenih istraživanja sadržaj folata u mleku kreće se u opsegu 45-99 µg/L s prosečnim vrednostima od 80-85 µg/L, pri čemu je dnevni volumen sekretovanog mleka 0.78-0.8 L ^(14,21,41). Kada se ove vrednosti uzmu u obzir procenjuje se da doljije dnevno gube oko 65 µg folata sekrecijom mleka. Kada se primeni korekcionni faktor za bioraspoloživost folata iz hrane sledi da je za ovu specifičnu populacionu grupu dnevno potrebno dodatnih 130 µg folata (tj. DFE) da bi se nadomestio ovaj gubitak i održao adekvatan status ^(14,21,41).

Određena stanja uzrokuju malapsorpciju folata i mogu izazvati klinički značajnu deficijenciju praćenu anemijom. Na primer, kod obolelih od celijačne bolesti tj. gluten senzitivne enteropatije često se registruje deficit ovog vitamina. Naime, ovo je hronično inflamatorno oboljenje koje se razvija kod genetski predisponiranih osoba u formi trajnog nepodnošenja glutena tj. prolinom i glutaminom bogatih proteina iz pšenice, raži i ječma ⁽¹¹⁰⁾. Ovo je, s patogenetskog aspekta, autoimuno oboljenje u kome je gluten pokretač autoimunog procesa i predstavlja jedan od najčešćih uzroka hronične malapsorpcije ⁽¹¹¹⁾. Pomenuto stanje karakteriše oštećenje intestinalne sluzokože praćeno redukcijom apsorptivne površine i digestivnih enzima što i uzrokuje poremećaj apsorpcije mikronutrijenata ⁽¹¹²⁾. Istraživanja su pokazala da je deficit folata čest i kod pacijenata sa tek dijagnostikovanom celijačnom bolešću i kod onih koji već primenjuju terapiju ishranom bez glutena ^(113,114).

Poremećaj resorpcije i neadekvatan status folata čest je i kod pacijenata obolelih od inflamatorne bolesti creva. Nutritivan status kod ove grupe pacijenata često je problematičan i dodatno negativno utiče na tok i ishod bolesti, kao i celokupno zdravstveno stanje. Restriktivna ishrana obolelih od Kronove bolesti ili ulceroznog kolitisa, povećana potrošnja folata i interakcije sa lekovima koji se koriste u terapiji (prevashodno sa sulfasalazinom), negativno utiču na nivo folata ^(115,116). Nizak nivo ovog mikronutrijenta može dovesti do povećanog nivoa homocisteina u serumu usled nedovoljne metilacije

metionina. Hiperhomocisteinemija se povezuje sa hiperkoagulabilnim stanjem i povećanim rizikom od tromboembolizma i kardiovaskularnih događaja, koji mogu biti ozbiljne, potencijalno i životno ugrožavajuće ekstraintestinalne komplikacije inflamatorne bolesti creva ⁽¹¹⁵⁻¹¹⁷⁾.

Hiperproliferativna kožna oboljenja kao što je psorijaza takođe se povezuju sa hiperhomocisteinemijom i poremećajem statusa folata. Deficit folata objašnjava se pre svega povećanjem potreba do koga dolazi usled ubrzane epidermopoeze. Mnoga istraživanja ukazuju da postoji direktna korelacija između povećanog kardiovaskularnog mortaliteta i ozbiljnosti psorijaze. Iako određeni komorbiditeti i neki faktori životnog stila mogu uticati na ovu vezu, smatra se da je posebno značajna uloga povećanog nivoa homocisteina koji je povezan sa deficitom folata ⁽¹¹⁸⁾.

Ozbiljna bubrežna oboljenja tokom kojih se sprovodi hemodijaliza takođe se povezuju sa deficitom folata. U nefrološkoj praksi malnutricija obolelih predstavlja veliki izazov budući da je potvrđena korelacija neadekvatnog nutritivnog statusa i deficita određenih nutrijenata sa zdravstvenim ishodom obolelih ⁽¹¹⁹⁾. Kod dijaliznih pacijenata česti su poremećaji statusa hidrosolubilnih vitamina, pa i folata. Do toga prevashodno dolazi usled gubitka tokom samog procesa dijalize, ali i usled poremećaja na nivou apetita, intestinalne resorpcije i interakcija sa lekovima koji se primenjuju u terapiji ^(119,120).

Još jedna rizična grupa za razvoj deficijencije folata su alkoholičari. Upravo je nedostatak folata najčešći mikronutrijentni deficit kod individua koje su hronični zavisnici od alkohola i može se ustanoviti kod i do 80% onih koji su u riziku od razvijanja alkoholne bolesti jetre ^(44,121). Etiologija poremećaja statusa folata u pomenutoj grupi je multifaktorijalna. Prvo, ishrana hroničnih alkoholičara je često neadekvatna i ne podrazumeva raznovrsnost ni unos dovoljne količine namirnica bogatih folatima. Pored toga postoje i drugi mehanizmi kojima kratkoročna ili hronična konzumacija alkohola remeti mehanizme koji su u organizmu odgovorni za održavanje homeostaze folata. Naime, istraživanja ukazuju da etanol može ispoljiti negativan uticaj na intestinalnu resorpciju pteroilpoliglutamil i pteroilmonoglutamil folata iz dijetarnih izvora i remetiti preuzimanje i

metabolizam 5-metiltetrahydrofolata u jetri i bilijarnoj cirkulaciji. Takođe, smatra se da kod kozenata etanola sniženju nivoa folata doprinosi i intenzivirana renalna ekskrecija. Dodatno, moguće je da etanol ili njegov metabolit acetaldehid imaju i direktan destruktivan efekat na molekul folata izazivajući proces oksidativne degradacije ^(44,121–123). Neadekvatan status ovog vitamina ima višestruke konsekvence kada je reč o zdravlju alkoholičara. Etanol redukuje ekspresiju i aktivnost mnogih regulatornih enzima uključenih u metabolički ciklus metionina, a deficit folata ima aditivni efekat u poremećaju metabolizma ove aminokiseline. Rezultat njihovih uticaja je sniženje nivoa S-adenozilmetionina, povišenje nivoa S-adenozilhomocisteina i homocisteina usled čega je intenziviran i rizik od tazvoja alkoholne bolesti jetre. Deficijencija folata je glavni uzrok anemije u grupi alkoholičara, a hronična zavisnost od alkohola i deficit folata zajedno povećavaju rizik od kolorektalnog karcinoma ^(44,122,123).

Pored pomenutih stanja postoji i čitav niz naslednih bolesti koje su povezane sa poremećajem homeostaze folata. Naime, mutacije određenih gena koji utiču regulaciju apsorpcije, transporta i metabolizma folata remete njihove metaboličke funkcije i uzrokuju klinički značajan deficit. Detaljno su izučene i u literaturi opisane: nasledna malapsorpcija folata (uzrokovana mutacijama gena koji kodira sintezu proton-kuplovanog folatnog transportera – SLC46A1), deficijencija metilentetrahydrofolat reduktaze (uzrokovana mutacijama MTHFR gena), deficijencija glutamatformimino transferaze (uzrokovana mutacijama FTCD gena), funkcionalna deficijencija metionin sintaze (uzrokovana mutacijama MTR ili MTRR gena), deficijencija dihydrofolat reduktaze (uzrokovana mutacijama DHFR gena, dovodi do megaloblastne anemije i cerebralne deficijencije folata sa varijabilnim neurološkim manifestacijama) i deficijencija trifunkcionalnog enzima koji obuhvata aktivnosti metilentetrahydrofolat dehidrogenaze, metilentetrahydrofolat ciklohidrolaze i formiltetrahydrofolat sintetaze (uzrokovana mutacijama MTHFD1 gena, a rezultat je komplekno patološko stanje koje karakteriše megaloblastna anemija, atipični hemolitički uremijski sindrom i imunodeficijencija) ^(124–129).

Zbog kritične uloge folata u procesu sinteze nukleinskih kiselina i deobe ćelija potrošnja ovih nutrijenata je značajno povećana u uslovima kada su pomenuti procesi

intenzivirani. Zato je i povećana incidenca deficita folata kod određenih maligniteta i mijeloproliferativnih oboljenja kao što su mijeloidna leukemija i mijelofibroza ^(130,131).

1.6.2 Interakcije folata i lekova

Pacijenti na terapiji određenim terapeutcima koji stupaju u interakciju sa folatima takođe se svrstavaju u vulnerabilne populacije za razvoj deficita. Sa druge strane, primena folne kiseline može da utiče na efikasnost i bezbednost terapije pojedinim lekovima. Uloga i odgovornost zdravstvenih profesionalaca su od ključnog značaja za preveniranje neželjenih posledica po zdravlje, a farmaceuti, kao eksperti u oblasti lekova i farmakoterapije mogu dati posebno značajan doprinos.

Antifolati su heterogena grupa lekova u okviru koje postoje razlike u smislu farmakoloških osobina, mehanizma dejstva, terapijske primene, karakteristika ciljne populacije i na osnovu toga, razlike u kontekstu bezbednosnog profila, neželjenih efekata i eventualnih preporuka o suplementaciji folnom kiselinom. Antimetaboliti koji utiču na metabolizam i funkcije folata već decenijama imaju veoma značajnu ulogu u terapiji malignih, infektivnih i hroničnih inflamatornih bolesti. Ovi agensi inhibiraju proliferaciju ćelija blokadom biosintetičkih i reakcija metilacije u kojima folati učestvuju kao kofaktori. Zbog ključne uloge u procesu de novo biosinteze purina i timidilata još četrdesetih godina prošlog veka antifolati su prepoznati kao efikasni agensi u terapiji akutne leukemije kod dece ⁽¹⁾. Metotreksat je prototip ove grupe terapeutika koji ima dugogodišnju primenu u onkologiji i reumatologiji. Indikovani su u terapiji aktivnog reumatoidnog artritisa kod odraslih kao prvi predstavnik tzv. bolest-modifikujućih antireumatskih lekova, juvenilnog idiopatskog artritisa kada se ne postiže odgovarajući odgovor primenom nesteroidnih antiinflamatornih lekova, kod teške i generalizovane psorijaze i kao citostatik u terapiji akutne limfoblastne leukemije ^(132–135). Pomenuti lek antiinflamatorno i antineoplastično dejstvo ostvaruje vezivanjem i reverzibilnom inhibicijom enzima dihidrofolat reduktaza koji je neophodan za konverziju folata u aktivnu formu tetrahidrofolata. Na taj način ovaj

agens limitira dostupnost funkcionalnih grupa sa jednim ugljenikovim atomom koje su potrebne u ćelijskim biosintetskim procesima. Među istraživačima i kliničarima postoji konsenzus da je uticaj na status folata od izuzetnog značaja za aktivnost ali i toksičnost metotreksata i drugih lekova iz grupe antimetabolita. Paralelna primena folne kiseline i ovih agenasa s ciljem redukcije rizika od neželjenih efekata koji su često i uzrok ranog prekida terapije, danas se intenzivno istražuje. Međutim, glavni problem predstavlja varijabilnost uticaja takve strategije na samu efikasnost terapije u kontekstu raznovrsnosti indikacija i doza antifolatnih lekova koje se za njih primenjuju. Postoje konzistentni dokazi koji upućuju na mogućnost primene folne kiseline uz metotreksat kada se on koristi u terapiji autoimunih oboljenja kao što su psorijaza ili reumatoidni artritis bez negativnog uticaja na efikasnost. Kod obolelih se na taj način redukuju neželjeni efekti i toksičnost metotreksata, poboljšava podnošljivost terapije, pa i dugoročna adherenca. Dodatno, pokazano je pacijenti sa reumatoidnim artritismom na terapiji metotreksatom imaju poremećaj statusa folata koji se povezuje sa porastom nivoa homocisteina i uvećanjem kardiovaskularnog rizika, a i to se može prevenirati adekvatnom suplementacijom navedenim nutrijentom ^(136,137). Ipak, redovno praćenje, kontrola biohemijskih parametara statusa folata i homocisteina, ali i koncentracije leka i parametara njihove kliničke aktivnosti ključni su u procesu upravljanja efikasnom i bezbednom terapijom. Sa druge strane, istovremena primena folne kiseline i terapeutika iz grupe antifolata tokom terapije leukemije i drugih neoplastičnih oboljenja još uvek se smatra kontraverznim pitanjem koje zahteva izuzetno pažljiv i individualizovan pristup uz stalni nadzor ⁽¹³⁸⁻¹⁴⁰⁾.

Antikonvulzivi kao što su karbamazepin, lamotrigin, valproinska kiselina, fenitoin, pirimidon, fenobarbital predstavljaju grupu medikamenata koja negativno utiče na status folata ⁽¹⁴¹⁾. Sprovedene su mnoge studije u kojima je registrovan subnormalni nivo folata kod pacijenata koji su bili na dugoročnoj terapiji ovim agensima, a predloženi su i različiti mehanizmi na kojima počiva ova interakcija. Iako ovo još uvek predstavlja kontraverzno pitanje, neka od mogućih objašnjenja podrazumevaju indukciju hepatičnih enzima, poremećaj resorpcije folata i povećane potrebe za folatnim kofaktorima u reakcijama hidroksilacije leka ⁽¹⁴²⁻¹⁴⁴⁾. Procenjeno je da oko 0.3% do 0.5% dece na globalnom nivou

rađaju majke sa epilepsijom, a činjenica da se antiepileptici sve više koriste i za druge indikacije kao što su terapija bola, migrene i psihijatrijskih poremećaja, ukazuje na značaj razmatranja potencijalno teratogenog uticaja ovih lekova. Podaci o teratogenom potencijalu ove grupe terapeutika generišu se isključivo iz obzervacionih studija, budući da je iz etičkih i praktičnih razloga apsolutno neopravdanao sprovođenje randomizovanih, kontrolisanih kliničkih ispitivanja. U procesu upravljanja terapijom, od ključnog je značaja evaluacija koristi i potencijalnih rizika za majku i dete, uz brižljivo kreiranje individualno prilagođenog terapijskog plana tj. izbora leka i režima doziranja na osnovu utvrđene dijagnoze, eventualno prisutnih komorbiditeta, medicinske i reproduktivne istorije ⁽¹⁴³⁾.

Istraživanja ukazuju i da određeni hipolipemici koji se koriste u terapiji dislipidemija mogu da ispolje negativan uticaj na balans folata. To se pre svega odnosi na sekvestrante odnosno adsorbense žučnih kiselina tj. smole sa osobinama anjonskih izmenjivača. Holestiramin i holestipol vezuju žučne kiseline, sprečavaju njihovu reapsorpciju i enterohepatičnu cirkulaciju, dovode do smanjenja apsorpcije egzogenog holesterola i povećanja metabolizma endogenog ^(145,146). Upravo zbog specifičnog mehanizma dejstva smatra se da redukuju apsorpciju i biološku raspoloživost folata i drugih nutrijenata ugrožavajući tako održavanje njihovog optimalnog statusa u organizmu ^(138,147). Zato se pacijentima koji primenjuju ove agense preporučuju suplementi folne kiseline uz napomenu da treba da ih uzimaju 1h pre ili 4-6h nakon uzimanja ovih lekova, kako bi se obezbedila adekvatna raspoloživost ⁽¹³⁸⁾.

Istraživanja ukazuju da derivati fibrinske kiseline koji se koriste u tretmanu hipertrigliceridemija mogu biti povezani sa porastom nivoa homocisteina u cirkulaciji za 20-50% ⁽¹⁴⁸⁾. Hiperhomocisteinemija predstavlja faktor rizika za bolesti koronarnih, cerebralnih i perifernih arterija, pa povećanje nivoa ove aminokiseline izazvano lekovima potencijalno redukuje njihov željeni efekat na kardiovaskularni morbiditet i mortalitet. Poznato je da suplementacija folnom kiselinom smanjuje nivo homocisteina i to za oko 15-25% ⁽¹⁴⁹⁾, a pokazano je da do ovakvog efekta dolazi i u uslovima jatrogene, fibratima izazvane, hiperhomocisteinemije ^(150,151). Zato se smatra da primena suplemenata folne

kiseline tokom terapije ovim medikamentima potencijalno obezbeđuje dodatni kardioprotektivni efekat i unapređuje njihovu kliničku efikasnost ^(150,152).

Nesteroidni antiinflamatorni lekovi takođe potencijalno stupaju u interakciju sa folatima putem kompetitivne inhibicije određenih folat zavisnih enzima i intenziviranja urinarne ekskrecije folata ^(138,153). Klinički značaj ove interakcije zavisi pre svega od doze terapeutika i dužine primene, a uticaj imaju i ishrana, eventualna primena drugih lekova ili dijetetskih suplemenata kao i faktori interindividualne varijabilnosti. U uslovima primene visokih doza NSAID tokom dužeg vremenskog perioda (na primer u terapiji reumatoidnog artritisa) može doći do značajnog poremećaja statusa folata i tada je suplementacija indikovana. Hronična upotreba niskih doza acetilsalicilne kiseline u okviru prevencije kardiovaskularnih događaja ne dovodi se u vezu sa ugrožavanjem statusa i funkcije folata. Međutim, u kontekstu potencijalnih pozitivnih efekata folne kiseline u redukciji nivoa homocisteina, primena suplemenata ovog nutrijenta u grupi pacijenata kod kojih je prepoznat povećan kardiovaskularni rizik može biti korisna ^(154,155).

Resorpcija folata u gastrointestinalnom traktu može biti redukovana u uslovima izmenjene pH vrednosti. Enzim folilpoli γ -glutamil karboksipeptidaza (folat konjugaza), koji je odgovoran za uklanjanje glutamatnih rezidua pteroilpoliglutamata iz dijetarnih izvora pre resorpcije je pH senzitivna i za funkciju ovog enzima idealna pH vrednost je oko 6.5. Takođe, sam transporterom posredovan proces resorpcije folata u tankom crevu optimalno funkcioniše u blago kiseljoj sredini (pH oko 6.0) ⁽³⁶⁾. Iz tih razloga, lekovi koji menjanju kiselost okruženja na mestu apsorbovanja utiču na raspoloživost unetih folata. Alkalinizacija proksimalnih delova tankog creva koju uzrokuju antacidi, antagonisti H₂ receptora i inhibitori protonske pumpe može uticati na balans folata ⁽¹³⁸⁾. Pored pomenutog mehanizma istraživanja ukazuju da antacidi koji sadrže aluminijum ili magnezijum hidroksid apsorpciju ovih esencijalnih mikronutrijenata remete putem površinske adsorpcije ⁽¹⁵⁶⁾. Iako je uticaj navedenih lekova relativno mali i retko ima kliničke implikacije ozbiljnost ishoda ovih interakcija u velikoj meri zavisi od specifičnih fizioloških karakteristika, ishrane, prisutnih patoloških stanja i eventualne primene drugih medikamenata kod određenog pacijenta. Uz svakako adekvatan savet o balansiranju

raznovidnoj ishrani koja sadrži namirnice bogate folatima preporuku o eventualnoj primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline i vitamina B12 treba razmotriti u kontekstu svih relevantnih faktora.

Folati su neophodni u procesu biosinteze monoaminskih neurotransmitera serotonina, dopamina i adrenalina. Mnoge studije ukazale su na korelaciju između deficita ovog hidrosolubilnog vitamina, poremećaja reakcija metilacije u kojima aktivni oblici folata učestvuju i hiperhomocisteinemije sa poremećajima raspoloženja ^(157,158). Selektivni inhibitori ponovnog preuzimanja serotonina (SSRI) danas se smatraju lekovima prvog izbora u lečenju nehospitalizovanih pacijenata s epizodama depresije blagog/umerenog intenziteta ili distimijom. Povećan unos folne kiseline putem ishrane i/ili suplemenata tokom terapije fluoksetinom ili srodnim lekovima iz pomenute grupe rezultuje sinergističkim/aditivnim efektom. Dodatno, folna kiselina može doprineti redukciji opasnosti od neželjenih dejstava SSRI lekova koji se odnose na povećanje rizika od nastanka dijabetesa tip II usled izazivanja oksidativnog stresa na nivou β ćelija Langerhansovih ostrvaca pankreasa ^(159,160). Naime, sprovedena istraživanja sugerišu da je manja verovatnoća realizacije željenog terapijskog odgovora ovih lekova kod depresivnih pacijenata čiji je nivo folata u cirkulaciji snižen, dok je rizik od relapsa povećan ⁽¹⁵⁸⁾. Primena folata može se zato preporučiti kao dopuna terapiji akutne faze depresije, kao i u terapiji blage i umereno teške depresije ^(161,162).

Istraživanja ukazuju da izonijazid, rifampicin i srodni antituberkulotici potencijalno negativno utiču na status folata u organizmu pacijenata na terapiji ovim antiinfektivnim agensima. Efekat na nivo folata, ipak, ne ostvaruje se direktno, već putem uticaja na kompleksne veze među vitaminima B grupe. Izonijazid, hidrazid nikotinske kiseline, nakon metaboličke aktivacije pro drug molekula deluje kao interferirajući agens u procesu sinteze lipida, nukleinskih kiseline i mikolične kiseline ćelijskog zida patogena i smatra se jednim od najpotentnijih agenasa u terapiji tuberkuloze. Utvrđena je korelacija između određenih neželjenih efekata pomenutog leka, kao što je periferna neuropatija, i funkcionalnog deficita vitamina B6 do koga dovodi ovaj terapeutik srodne hemijske strukture. Upravo to

se povezuje sa poremećajem sinteze vitamina B12 i dalje pojavom problema u procesu sinteze folata i realizaciji njihovih funkcija ^(138,163,164).

Triamteren, diuretik koji štedi kalijum, prema nekim istraživanjima stupa u interakciju sa folatima i potencijalno se može povezati sa deficitom ovih nutrijenata. Naime, moguće je da ovaj lek ometa resorpciju i smanjuje biološku easpoloživost folata iz dijetarnih izvora mehanizmom kompetitivne inhibicije na nivou intestinuma ⁽¹⁶⁵⁾. Pored toga, deluje kao relativno slab antifolatni agens putem dozno zavisnog inhibitorynog uticaja na enzim dihidrofolat reduktazu usled čega se smanjuje nivo dostupnih biološki aktivnih folata u organizmu. Iako klinički značaj ove interakcije zavisi u velikoj meri od drugih relevantnih faktora, pacijentima na terapiji pomenutim diuretikom svakako treba sugetisati da u svakodnevnu ishranu uključe namirnirnice bogate vitaminom B9, a preporuku o suplementaciji doneti u slučaju prisustva još nekih faktora rizika za razvoj deficita. Unos suplemenata folne kiseline kod kardioloških pacijenata na derapiji diureticima bi mogao biti koristan i u kontekstu uticaja na nivo homocisteina ⁽¹³⁸⁾

Organski nitrati su u dugogodišnjoj kliničkoj upotrebi u terapiji koronarne bolesti. Reč je o pro drug agensima koji u organizmu, posle reakcije denitracije prelaze u aktivnu formu. Naime, nitrovazodilatatori oslobađaju reaktivni slobodni radikal u gasnom stanju NO, koji je identičan važnom ubikvitarnom medijatoru koji se endogeno generiše iz L-arginina dejstvom sintaze azotnog oksida (NOS). Međutim, primena organskih nitrata u velikoj meri je limitirana razvojem tolerancije do koje dolazi tokom hronične primene. Ova pojava se iskazuje kao slabljenje ili gubitak jednog ili više efekata nitrata, poput smanjenja hipotenzivnog efekta ili tolerancije napora, uz intenziviranje znakova i simptoma ishemije miokarda. Smatra se da je etiologija razvoja tolerancije multifaktorijalna i iako konsenzus o objašnjenju još uvek nije usvojen, predloženi su različiti mehanizmi. Neki od njih podrazumevaju ćelijsku depleciju sulfhidrilnih grupa, neurohumoralnu aktivaciju, ekspanziju volumena i generisanje slobodnih radikala na nivou endotela ^(166,167). Pokazano je da određene abnormalnosti na nivou funkcije endotelne sintaze azotnog oksida (eNOS) mogu rezultovati povećanjem produkcije superoksidnog anjona. Superoksid anjon i druge reaktivne kiseonične vrste mogu da ostvare direktan negativan uticaj na dostupnost NO i

dodatno da smanje efekat ovog vazodilatatora na nivou glatkih mišićnih ćelija putem uticaja na celularne prenosne mehanizme. Smatra se da redukovana raspoloživost tetrahidrobiopterina, kofaktora eNOS i/ili L-arginina koji je supstrat pomenutog enzima utiču na povećanu produkciju superoksid anjona ^(167,168). Postoje brojne hipoteze o tome na koji način folna kiselina može doprineti redukciji pojave tolerancije na organske nitrata, a neke od njih zasnivaju se na enzimskoj regeneraciji i hemijskoj stabilizaciji tetrahidrobiopterina, inhibitornom uticaju na druge potencijalne izvore reaktivnih kiseoničnih vrsta i direktnom antioksidativnom efektu ⁽¹⁶⁷⁾. Sprovedene studije upućuju da zbog ovih i drugih potencijalnih efekata folata u kontekstu unapređenja endotelne funkcije treba razmotriti intenziviranje preporuka o primeni suplemenata folne kiseline kod obolelih od ishemijskih bolesti ^(167–169).

1.6.3 Klinički deficit folata

Folati su esencijalni nutrijenti neophodni za adekvatno odvijanje čitavog niza biosintetskih i metaboličkih reakcija i normalno funkcionisanje različitih organa i organskih sistema. Deficit ovih jedinjenja zato ima najveći uticaj na brzo proliferišuća tkiva kao što su koštana srž, mukozne membrane, gastrointestinalni trakt i reproduktivni sistem ⁽¹⁷⁰⁾.

Nedovoljan unos folata prvo dovodi do smanjenja njihove serumske koncentracije, zatim koncentracije u eritrocitima, potom porasta koncentracije homocisteina i konačno megaloblastnih promena u koštanoj srži i drugim tkivima u kojima je intenzivna deoba ćelija ⁽¹⁷¹⁾.

Viktor Herbert je sproveo čuveni eksperiment kada se podvrgao specifičnom režimu ishrane koji je bio deficitaran folatima tokom kojeg je pratio hematološke parametre, status folata i razvijanje simptoma deficita ⁽¹⁷²⁾. Naime, on je konzumirao namirnice koje su bile trostruko kuvane u velikoj količini vode, s ciljem da se uklone hidrosolubilni vitamini. Potrebu za svim vitaminima rastvorljivim u vodi, izuzev folata tj. vitamina B₉, je nadoknađivao primenom adekvatnih suplemenata. Evidencijom i analizom relevantnih

parametara u studiji eksperimentalno izazvane deficijencije pomenuti naučnik je pokazao da se nakon 4 meseca razvila megaloblasna anemija ^(172,173).

Termin megaloblasna anemija opisuje grupu poremećaja sa karakterističnim morfološkim obrascem na nivou hematopoetskih ćelija. Poremećaj u procesu sinteze nukleinskih kiselina i proteina rezultuje narušavanjem ravnoteže u strogo kontrolisanim procesima ćelijskog rasta i deobe. Ključna karakteristika megaloblastoze su defekti u procesu sinteze DNK koji dovode do asinhronog sazrevanja nukleusa i citoplazme. Naime, ćelije su većih dimenzija u odnosu na normalne, imaju uvećan volumen i jedra su im na nižem stupnju zrelosti od citoplazme, uz granularnu prezentaciju hromatina ^(170,174). Abnormalnosti koje se registruju na nivou hematopoeznog tkiva kod deficita folata ukazuju na premećaj na nivou biohemijskih reakcija u kojima folati učestvuju kao koenzimi tokom sinteze DNK. jedna od tih reakcija je konverzija deoksiuridilata (dUMP) u deoksitimidilata (dTMP). Ovo je reakcija metilovanja u kojoj je 5,10-metilentetrahidrofolat donor metilen grupe. Druge značajne reakcije podrazumevaju aktivnost koenzima 10-formiltetrahidrofolata u biosintezi purinskog prstena ⁽¹⁴⁹⁾.

U ranim fazama anemije kompenzatorni biohemijski i kardiopulmonalni mehanizmi obezbeđuju adaptaciju na smanjeni kapacitet krvi da prenosi kiseonik do ciljnih tkiva ⁽¹⁷⁵⁾. Međutim, kako se anemija pogoršava pojavljuju se i simptomi kao što su malaksalost, zamor, glavobolja, otežano koncentrisanje, iritabilnost, dispneja, palpitacije, anoreksija i dijareja ^(41,170).

Precizna determinacija etiološkog faktora koji je doveo do megaloblastnih poremećaja od kritičnog je značaja budući da primena neadekvatnih terapijskih mera može imati ozbiljne konsekvence za pacijenta. Megaloblastnu anemiju najčešće izaziva deficit folata ili vitamina B₁₂, tj. vitamina koji imaju kritičnu ulogu u procesu sinteze DNK. Funkcije ovih vitamina su međusobno povezane i hematološke manifestacije deficita su gotovo identične u oba slučaja. U slučaju deficijencije vitamina B₁₂, često su prisutni i neurološki poremećaji i gastrointestinalne tegobe. Neurološki simptomi najčešće nastaju kao posledica enzimske disfunkcije na nivou sinteze folfolipida, što dovodi do demijelinizacije u mozgu i kičmenoj

moždini i rezultuje simptomima kao što su simetrične parestezije, spasticitet, pareze, poremećaj kontrole sfinkera i ravnoteže. Dodatno, mogu se razviti i određene cerebralne manifestacije deficita kao što su konfuzija, paranoja, demencija, pa čak i psihoza ⁽¹⁷⁶⁾. U slučaju megaloblasne anemije koja je nastala kao posledica deficita vitamina B₁₂ primena monoterapije folnom kiselinom može dovesti do regulisanja hematoloških abnormalnosti, ali i progresivnih i trajnih neuroloških sekvela ⁽¹⁷⁷⁾. Zato se u procesu dijagnostikovanja megaloblasne anemije i utvrđivanja uzroka takvog stanja, klinički znaci i simptomi moraju razmatrati s posebnom pažnjom uz laboratorijske rezultate i biohemijsko-hematološke parametre ⁽¹⁷¹⁾.

1.7 Folna kiselina i prevencija defekata nervne cevi

1.7.1 Defekti nervne cevi

Najveći broj strukturnih defekata tokom fetalnog razvoja nastaje kao rezultat kompleksne interakcije faktora sredine, životnog stila, genetskih i epigenetskih procesa ⁽¹⁷⁸⁾. Termin kongenitalne anomalije obuhvata sve morfološke (strukturno-anatomske), funkcionalne i biohemijsko-molekularne defekte koji se razvijaju od začeća do rođenja i prisutni su na rođenju bilo da se tada i registruju ili ne ⁽¹⁷⁹⁾.

Prevencija kongenitalnih anomalija podrazumeva sve individualne i javnozdravstvene mere i aktivnosti koje su usmerena ka redukciji prevalencije ovih poremećaja. Te strategije uključuju nutritivne intervencije, kontrolu profesionalne, sredinske i medicinske ekspozicije teratogenima, prevenciju infektivnih i drugih oboljenja majki, perikonceptijsku zdravstvenu negu žena sa već uspostavljenim dijagnozama (uz poseban fokus na pojedina stanja, kao što su dijabetes, epilepsija i gojaznost) i posebne mere za kontrolu korišćenja medikamenata, duvana i alkohola ⁽¹⁸⁰⁾.

Naučni napredak u oblasti etiopatogeneze kongenitalnih anomalija doveo je do saznanja da optimalno izbalansirana ishrana majki uz adekvatan unos makro i mikronutrijenata može doprineti redukciji incidence ovih poremećaja ⁽¹⁸¹⁾. Ishrana majki je izvor esencijalnih

nutrijenata koji služe kao gradivne komponente, transkripcioni faktori, signalni elementi i faktori rasta u procesu embrionalnog i fetalnog razvoja ⁽⁹⁴⁾. Smatra se da nutritivni disbalans tokom trudnoće može uticati na ekspresiju gena i uzrokovati abnormalnosti fenotipa fetusa. Folati su prepoznati kao ključni nutrijenti u obezbeđivanju normalnog embrionološkog razvoja ⁽¹⁸²⁾. Neophodni su za formiranje nukleotida- gradivnih jedinica u *de novo* sintezi i reparaciji nukleinskih kiselina, metabolizam aminokiselina i kao takvi od izuzetnog značaja posebno u periodu intenzivne ćelijske proliferacije.

Sa deficitom folata najčešće se povezuju defekti nervne cevi, kraniofacijalne i srčane malformacije. Ove tri folat-senzitivne anatomske regije povezuje činjenica da tokom embriogeneze, njihov razvoj zavisi od multipotentnih srednje-dorzalnih neuroepitelnih ćelija. Za normalno odvijanje ćelijskog rasta, diferencijacije i migracije pomenutim ćelijama potrebne su odgovarajuće količine folata. Ukoliko je priliv folata do embrionalnog tkiva redukovan usled nutritivne deficijencije, izloženosti antagonistima folata ili antitelima za folatne receptore, ili, ukoliko postoje genetske alteracije koje ometaju transport ili aktivnost folata razvijaju se ozbiljne strukturne malformacije ⁽¹⁷⁸⁾.

Defekti nervne cevi (*Neural tube defects (NTD)*) su najčešće kongenitalne anomalije centralnog nervnog sistema i smatra se da se njihova incidenca na globalnom nivou kreće od 0.5 do 14 na 1000 živorođenih. Ovaj tip patologije danas je prepoznat kao veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta, mortaliteta, društvenih troškova i ljudske patnje ^(41,183). U prilog činjenici da se radi o velikom društvenom i zdravstvenom problemu ide i podatak da procenjena incidenca defekta nervne cevi iznosi 300 000 novih slučajeva godišnje na globalnom nivou, od kojih 88000 rezultuje smrtnim ishodom ^(184,185). Pored toga, smatra se da oko 20 % obolelih ima i druge kongenitalne anomalije i da su defekti nervne cevi odgovorni za 8,6 miliona DALY-ja (Godine života korigovane u odnosu na nesposobnost – eng. *DALY-Disability Adjusted Life Years*) ^(185,186).

Zatvaranje nervne cevi je ključni događaj za pravilno formiranje nervnog sistema tokom embriogeneze i ovaj proces se odigrava tokom treće i četvrte nedelje (tj. od 21. do 28. dana) od začeća ⁽¹⁸⁷⁾. Budući da je čak i u najrazvijenijim zemljama sveta udeo

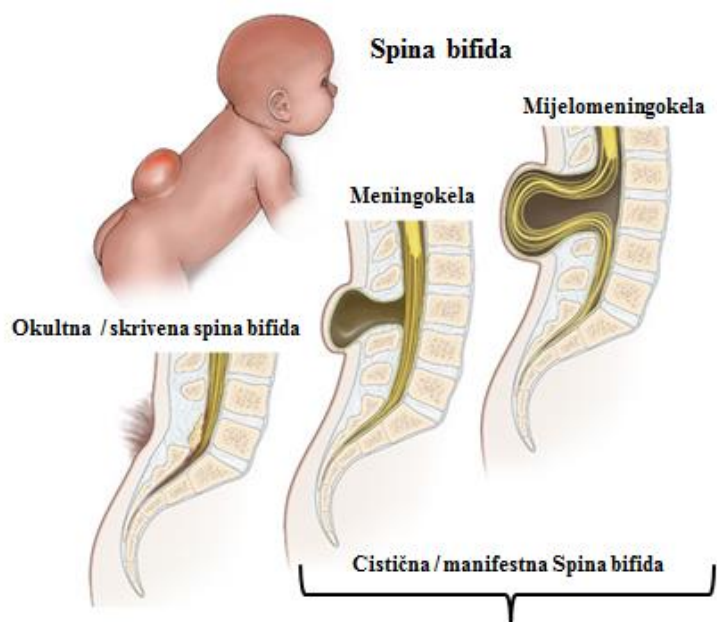
neplaniranih trudnoća prilično visok (oko 50 %) tokom pomenutog perioda većina žena još uvek nije ili tek postaje svesna drugog stanja ⁽¹²⁾.

Dorzalnim savijanjem nervne/medularne ploče od 15.dana nakon začeća nastaje nervna cev. Kranijalni deo nervne cevi formira se u periodu od 21. do 26.dana od začeća, dok se kaudalni kraj zatvara od 23. do 28.postkonceptijskog dana. Kranijalne dve trećine nervne cevi predstavljaju strukturu iz koje se kasnije razvija mozak, dok je preostali, kaudalni deo, razvojni prekursor kičmene moždine. Upravo zato su, pomenuti periodi, kritični za nastanak defekata nervne cevi. U kliničkoj praksi se gestaciona starost računa od prvog dana poslednjeg menstrualnog ciklusa, pa je potrebno dodati 14 dana na postkonceptijsku starost da bi se izračunala gestaciona starost. Iz ovoga proističe da su kritični periodi za razvoj anecefalije između 35. i 40., a spine bifide između 37. i 42. dana gestacione starosti ⁽¹⁸⁸⁾.

Moždane komore i centralni kanal kičmene moždine formiraju se od nervnog kanala tj. lumena nervne cevi. Po završetku neurulacije, nervnu cev konstruiše jedan sloj neuroepitelnih ćelija, koje strukturom, položajem i rasporedom daju privid pseudodvoslojevitog epitela. Neuroepitelne ćelije su prekursori za dva bazična tipa ćelija nervnog sistema – neuroblaste (od kojih nastaju neuroni) i glioblaste (od kojih se razvija makroglija tj.neuroglija). Proces neurulacije je visoko kompleksan i strogo regulisan. Poremećaji u optimalnoj realizaciji razvitka nervne cevi rezultuju kongenitalnim anomalijama koje se mogu razlikovati po kliničkim karakteristikama, ozbiljnosti i posledicama. Anecefalija i spina bifida su najčešće forme defekata nervne cevi, dok se encefalokela registruje nešto ređe (Slika 4, Slika 5 i Slika 6). Dok anecefalija nije kompatibilna sa životom, kod novorođenčadi sa dijagnostikovanom spinom bifidom ili encefalokelom preživljavanje je moguće, ali uz ozbiljne zdravstvene probleme, invaliditet i preuranjeni mortalitet ⁽¹⁸⁶⁻¹⁸⁸⁾. Klasifikacija defekata nervne cevi podrazumeva još i podelu na otvorene, kod kojih je nervno tkivo izloženo ili pokriveno samo membranom, i zatvorene, kod kojih defekt prekriva normalna koža ⁽¹⁸⁶⁾. Sažeti pregled uzroka, kliničke slike, zdravstvenih sekvela i prognoze za spinu bifidu, encefalokele i anecefaliju dat je u Tabeli 5.

Tabela 5. Pregled defekata nervne cevi (23,184,188,189)

	Anecefalija	Encefalokela	Spina bifida
Uzrok	Neuspešno zatvaranje anteriornog (kranijalnog) neuralnog luka	Neuspešno zatvaranje anteriornog (kranijalnog) neuralnog luka u kasnijoj fazi embriogeneze u odnosu na anecefaliju	Neuspešno zatvaranje posteriornog (kaudalnog) neuralnog luka; Najčešće zahvata lumbosakralni deo i neretko je povezana sa pojavom hidrocefalusa (poremećaja u dreniranju cerebrospinalne tečnosti)
Kliničke karakteristike	Nedostatak varijabilnih delova mozga, moždanih ovojnica, kičmene moždine, lobanje i skalpa	Protruzija delova moždanog tkiva - moždanih hemisfera ili meninga (ovojnica mozga) kroz defekte lobanje, u formi vrećaste formacije najčešće locirane na centralnoj liniji okcipitalnog područja; znatno ređe se javlja frontoetmoidalna, parijetalna ili sfenoidalna lokalizacija	Skrivena/ okultna spina bifida - dolazi do nepotpunog zatvaranja nervne cevi, ali je rascep mali i nema neuroloških ispada, znakovi defekta su pojačana maljavost iznad kritičnog mesta, eventualno nakupljanje masnog tkiva, udubljenje i/ili promena pigmentacije kože i proširenje kapilara ili pojava hemangioma; Cistična/manifestna spina bifida obuhvata meningokele - dolazi do hernijacije tj. protruzije likvora i meninga kroz koštani defekt na zadnjem delu kičmenog kanala što se manifestuje odizanjem kože i potkožnih struktura i pojavom ciste na leđima koja sadrži ove strukture; i mijelomeningokele - teži oblik, dolazi do hernijacije displastične kičmene moždine uz cerebrospinalnu tečnost i meninge. Ukoliko je prisutan, hidrocefalus izaziva povećanje intrakranijalnog pritiska
Prognoza i posledice	Stanje nije kompatibilno sa životom: mrtvorodena deca ili smrt nastupa u prvih nekoliko sati/dana po rođenju	Uz hirurško lečenje ishodi variraju od normalne neurološke funkcije do poremećaja na nivou različitih domena; Visoka stopa smrtnosti usled meningitisa; Prognoza i lečenje zavise od lokalizacije, veličine i sadržaja encefalokele (pre svega moždanog tkiva prisutnog u herniranoj vreći), kao i prisustva udruženih anomalija i poremećaja (mikrocefalus / hidrocefalus)	Kod okultne spine bifide simptomi su retki (bol u leđima, poremećaji mokrenja i defekacije, motorne smetnje), obično ne zahteva nikakvo lečenje, terapijeske mere se primenjuju samo ako su izraženi neurološki ispadi. Kod manifestne spine bifide beleži se varijabilan stepen onesposobljenosti uključujući različite tipove poremećaja - neurološke (senzorni i motorni defekti, kognitivne smetnje, epilepsija), funkcionalne (poremećaji mokrenja i defekacije) i ortopedske (kontrakture, dislokacije zglobova, deformiteti stopala).



Slika 4. Ilustracija okultne i manifestne Spine bifide

Adaptirano iz: CDC, Centers for Disease Control and Prevention - Birth Defects Surveillance Toolkit. Congenital malformations of the nervous system: neural tube defects. Photo Atlas. ⁽¹⁹⁰⁾



Slika 5. Ilustracija različitih lokalizacija encefalokele

Adaptirano iz: CDC, Centers for Disease Control and Prevention - Birth Defects Surveillance Toolkit. Congenital malformations of the nervous system: neural tube defects. Photo Atlas. ⁽¹⁹⁰⁾



Slika 6. Ilustracija anecefalije

Adaptirano iz: CDC, Centers for Disease Control and Prevention - Birth Defects Surveillance Toolkit. Congenital malformations of the nervous system: neural tube defects. Photo Atlas. ⁽¹⁹⁰⁾

1.7.2 Prevencija defekata nervne cevi – istorijski pregled istraživanja

Epidemiološke studije su bile glavni instrument u procesu razjašnjavanja uzroka defekata nervne cevi i dosadašnje spoznaje sugerišu da je etiologija ovih poremećaja multifaktorijalna i da su značajni i genetski i faktori sredine. Primećena je varijabilnost u učestalosti njihove pojave u odnosu na geografske, vremenske, etničke i determinante socioekonomskog statusa ⁽¹⁸⁶⁾. Pretpostavka da je ishrana značajan faktor uticaja kompatibilna je sa činjenicom da je registrovan povećan rizik od nastanka ovih kongenitalnih anomalija u grupama nižeg socioekonomskog statusa sa problematičnim materijalnim stanjem. Posledice neadekvatne ishrane uz limitiran unos nutrijenata su intenzivirane u uslovima aktivnog razvoja embriona i ubrzane ćelijske proliferacije.

Prva ideja o vezi folne kiseline i nastanka pomenutih kongenitalnih anomalija vezuje se za 60-te godine prošlog veka kada je istraživačka grupa predvođena Hibbardom ukazala na veću incidencu poremećaja statusa folata kod žena čije su trudnoće kao ishod imale malformacije fetusa ⁽¹⁹¹⁾. Smithells i saradnici su utvrdili sniženu koncentracija pojedinih mikronutrijenata, a posebno folata u uzorcima krvi uzetim postpartalno od žena koje su rodile decu sa defektima nervne cevi ⁽¹⁹²⁾. Ista grupa naučnika pokrenula je i multicentrično, ali iz etičkih razloga nerandomizovano kontrolisano istraživanje u kome je sprovedena suplementacija folnom kiselinom žena kod kojih su defekti nervne cevi registrovani u

prethodnim trudnoćama. Naime, gotovo 1000 žena je uključeno u istraživanje u kome je test grupa koristila 360 µg folne kiseline svakodnevno 2 meseca pre začeća i tokom prvog trimestra trudnoće. Samo tri slučaja defekta nervne cevi dogodila su se u grupi od 454 žena koje su bile podvrgnute suplementaciji, a 24 slučaja u kontrolnoj grupi od 519 žena koje nisu primenjivale folnu kiselinu ⁽¹⁹³⁾.

Rezultati randomizovane, kontrolisane, duplo-slepe studije sprovedene u dva distrikta Južnog Velsa publikovani 1981. godine su bili veoma slični ⁽¹⁹⁴⁾. U ovom istraživanju učestvovala su žene koje su u istoriji prethodnih trudnoća imale defekte nervne cevi i koje su ponovo planirale da ostanu u drugom stanju. U eksperimentalnoj grupi žene su koristile 2 mg folne kiseline dva puta dnevno, dok su ispitanice iz kontrolne grupe primenjivale placebo. Od 44 trudnoće iz eksperimentalne grupe nijedna nije rezultovala defektima nervne cevi, dok su 4 slučaja od 51 trudnoće evidentirana u drugoj grupi. Međutim, ovi rezultati, iako indikativni, dovedeni su u pitanje zbog relativno malog broja ispitanica, problema sa komplijansom u eksperimentalnoj grupi i kontraverznim tumačenjem 2 slučaja tzv. *spina bifida cystica*.

Definitivni dokaz o koristi primene folne kiseline u cilju redukcije rizika od rekurencije defekata nervne cevi dala je multicentrična, randomizovana, slepa, kontrolisana studija koju je sproveo Savet za medicinska istraživanja Ujedinjenog Kraljevstva (*Medical Research Council –MRC, United Kingdom*) ⁽¹⁹⁵⁾. Dizajn ove studije podrazumevao je podelu žena koje su u prethodnim trudnoćama imale iskustva sa defektima nervne cevi po principima randomizacije u 4 grupe u okviru kojih su ispitanice svakodnevno mesec dana pre začeća i tokom prvih 12 nedelja graviditeta primenjivale: 4 mg folne kiseline, 4 mg folne kiseline i multivitaminski preparat, multivitaminski preparat bez folne kiseline i placebo. Studija je sprovedena u 33 centra - 17 lociranih u Ujedinjenom Kraljevstvu i 16 u drugim zemljama – Mađarskoj, Izraelu, Australiji, Kanadi, tadašnjem SSSR-u i Francuskoj u periodu od 1983. do 1991. godine. Budući da je registrovano 6 slučajeva ovih kongenitalnih anomalija u grupi od 593 žene koje su primenjivale folnu kiselinu, u odnosu na 21 slučaj u kontrolnim grupama, zaključeno je da je ispitivana intervencija dovela do redukcije rizika od 72%, a da primena multivitaminskog preparata bez folne kiseline nije imala efekta.

Kada je reč o istraživanjima usmerenim na ispitivanje uloge folne kiseline u primarnoj prevenciji defekata nervne cevi kod žena koje nisu imale prethodne trudnoće sa ovim tipom kongenitalnih anomalija, posebno je značajna tzv. Mađarska (ili Budimpešta) studija (23,179,196). Učesnice ove velike, randomizovane kontrolisane studije bile su žene iz Mađarske koje su planirale začeće i koje su po principu slučajnog izbora podeljene u dve grupe. Intervencija kojoj je podvrgnuta eksperimentalna grupa podrazumevala je svakodnevnu primenu 800µg folne kiseline u kombinaciji sa multivitaminskim suplementom, dok je kontrolna grupa primenjivala preparat minerala. U eksperimentalnoj grupi od 2104 žena ostvarena je kompletna prevencija kongenitalnih anomalija tipa defekata nervne cevi bez i jednog registrovanog slučaja, dok ih je u kontrolnoj grupi od 2052 žene zabeleženo 6.

Pored pomenutih, značajna je i intervenciona studija sprovedena u Kini, čiji rezultati takođe ukazuju na redukciju incidence defekata nervne cevi do koje dolazi kao rezultat perikonceptijske primene 400µg folne kiseline (197). Primećeno je da u Kini postoji značajna varijabilnost u učestalosti pojave ovih anomalija u odnosu na geografske determinante tako da određene provincije u severnom delu zemlje imaju neuobičajeno visok stepen incidence, za razliku od onih koje su locirane na jugu. Tokom perioda od 1993. do 1995. godine sprovedena je javnozdravstvena kampanja kojom je obuhvaćena jedna severna provincija prepoznata kao zona visokog rizika i dve južne. Rezultati su ukazali na redukciju rizika od 79 % u severnoj, odnosno 16% u južnim provincijama kod žena koje su demonstrirale odgovarajuću adherencu sa preporukama.

Konsenzus utvrđen na nivou relevantnih institucija i organizacija usaglašen je i sa navišim nivoom dokaza koji predstavlja sistematski pregled i meta-analiza publikovana 2010. godine kojom su objedinjeni nalazi najznačajnijih studija u oblasti perikonceptijske primene folne kiseline sa ciljem ostvarivanja primarne prevencije i redukcije rizika od rekurencije defekata nervne cevi (198). Učestalost ovih kongenitalnih anomalija analizirana je na ukupno 6105 trudnoća, pri čemu intervencione grupe objedinjuju 3066 žena, a kontrolne 3039, odnosno 1949 žena koje su imale već zabeležene slučajeve defekata nervne cevi ploda u prethodnim trudnoćama i 4156 žena bez ovog tipa patologije u medicinskoj istoriji.

Evaluacija rezultata pokazala je da je do pojave defekata nervne cevi došlo u 12 graviditeta u grupama kod kojih je primenjena suplementacija folnom kiselinom (samostalno ili u kombinaciji sa drugim vitaminima i mineralima) u odnosu na 45 slučajeva u kontrolnim grupama (koje nisu podvrgnute nikakvoj intervenciji ili su primenjivale placebo ili vitaminsko-mineralni preparat bez folne kiseline), što ukazuje na statistički značajnu redukciju rizika (*risk ratio* (RR) 0.28, 95% interval pouzdanosti (CI) 0.15-0.52). Navedena meta analiza je ažurirana 2015.godine i tada su analizirani podaci od ukupno 7391 ispitanica (2033 žene koje su već imale trudnoće sa defektima nervne cevi fetusa i 5358 žena bez ovog tipa kongenitalnih anomalija u reproduktivnoj istoriji) ⁽¹⁹⁹⁾. Na uzorku od 6708 rođene dece za koje su bili dostupni podaci o eventualnom prisustvu defekata nervne cevi i drugim zdravstvenim parametrima utvrđeno je protektivno dejstvo suplementacije folnom kiselinom (samostalno, ili uz druge vitamine i minerale) u odnosu na slučajeve kada majke nisu bile podvrgnute intervenciji, ili su koristile placebo, ili su primenjivale druge vitamine/minerale, ali bez folne kiseline (statistički značajna redukcija rizika: *risk ratio* (RR) 0.31, 95% interval pouzdanosti (CI) 0.17-0.58). Samo jedna od analiziranih studija nije potvrdila statistički značajan efekat folne kiseline u redukciji incidence defekata nervne cevi (RR 0.07, 95%CI interval pouzdanosti 0.00-1.32), ali, važno je naglasiti da u pomenutoj studiji ni kod jedne žene koja je primenjivala folnu kiselinu u obliku dodataka ishrani nije došlo do pojave razvojnih malformacija ploda tipa defekata nervne cevi. Konačno, meta-analiza je ukazala i na značajan protektivan efekat folne kiseline u prevenciji rekurencije tj. Ponovne pojave defekata nerve cevi (RR 0.34, 95% interval pouzdanosti (CI) 0.18-0.64).

Navedene studije, a i mnoga druga do sada sprovedena i publikovana istraživanja, nedvosmisleno ukazuju na značaj perikonceptijske primene folata kako u primarnoj prevenciji, tako i u redukciji rekurencije defekata nervne cevi. Svi ovi dokazi uticali su i na kreiranje zdravstvene politike, formulaciju preporuka o unosu folata na globalnom nivou i pokretanje velikog broja različitih kampanja i javnozdravstvenih intervencija.

1.7.3 Perikonceptijska suplementacija folnom kiselinom – aktuelne preporuke

Ubrzo nakon objavljivanja rezultata studije Saveta za medicinska istraživanja Ujedinjenog Kraljevstva Centar za kontrolu i prevenciju bolesti (*Centers for Disease Control and Prevention - CDC*) izdao je preporuku svim ženama koje imaju visok rizik za pojavu defekta nervne cevi, prepoznat na osnovu takvog iskustva u prethodnim graviditetima, da planiraju začće tako da u perikonceptijskom periodu i tokom prvog trimestra trudnoće obezbede unos od 4 mg folne kiseline na dan ⁽²⁰⁰⁾.

Nakon publikovanja rezultata opisane Mađarske studije 1992. godine ista organizacija u javnost je izašla sa preporukom da sve žene u reproduktivnom periodu treba da konzumiraju dodatnih 400 µg folne kiseline, uz ishranu koja sadrži namirnice bogate folatima ⁽²⁰¹⁾. I Američki Institut za medicinu, Nutricioni odbor Nacionalne akademije nauka preporučio je da sve žene sposobne da ostanu u drugom stanju treba da dnevno unose 400 µg folne kiseline u formi suplemenata i/ili fortifikovanih namirnica kao dopunu konzumaciji folata putem raznovrsne ishrane (budući da zbog problematične biološke raspoloživosti i podložnosti folata iz hrane na reakcije degradacije tokom skladištenja, procesovanja i pripreme namirnica ovaj izvor folata nije dovoljan da se obezbedi optimalni unos za prevenciju) ⁽⁴¹⁾. Ovde treba naglasiti da iako je preporučena vrednost identična, postoji mala semantička razlika u formulaciji tako da je upotrebljen termin „žene sposobne da ostanu u drugom stanju“ umesto „žene reproduktivne dobi“ budući da se ovaj drugi odnosi samo na starosno determinisanu populacionu grupu i ne uzima u obzir žene koje su sterilne, već u drugom stanju ili one koje nisu seksualno aktivne, a to su sve grupe na koje se ova preporuka ne odnosi.

Ekspertske grupe Svetske zdravstvene organizacije (*World Health Organization – WHO*) i Organizacije za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija (*Food and Agriculture Organization of the United Nations – FAO*) su izrazile saglasnost sa pomenutim preporukama ⁽¹⁴⁾. Takođe, Odeljenje za bezbednu trudnoću Svetske zdravstvene

organizacije (*Department of making pregnancy safe, World Health Organization*) je 2006. godine u okviru Standarda za maternalnu i neonatalnu negu ⁽²⁰²⁾ iznelo i konkretnu preporuku da sve žene od momenta planiranja trudnoće, idealno dva meseca pre začeća, i u prvih 12 nedelja trudnoće uzimaju 400µg folne kiseline u formi suplemenata, a da žene kod kojih postoji značajno povećan rizik od defekata nervne cevi (istorija prethodnih trudnoća sa ovim tipom kongenitalnih anomalija, primena antikonvulzivne terapije ili dijagnostikovani dijabetes), treba da budu savetovane da u ishranu uvrste namirnice bogate folatima i pod medicinskim nadzorom primenjuju 5 mg folne kiseline dnevno u cilju redukcije rizika. U pomenutom dokumentu ističe se i značaj kreiranja i implementacije nacionalnih i lokalnih vodiča, adekvatnih edukacionih mera kojima se unapređuje društvena svest o značaju perikonceptijske primene folne kiseline, kao i primene odgovarajućih metoda za evidentiranje svih aktivnosti i rezultata u okviru ovih preventivnih intervencija. Posebno je u kontekstu ovih aktivnosti naglašen značaj uloge zdravstvenih profesionalaca. Takođe, u oblastima gde je prevalenca anemije u populaciji žena reproduktivne dobi preko 20%, i gde se fortifikacija osnovnih životnih namirnica ne planira za period od narednih 1-2 godine, Svetska zdravstvena organizacija preporučuje implementaciju strategije primene nedeljne suplementacije folnom kiselinom (2.8 mg) i preparatom gvožđa (60 mg FeSO₄·7H₂O) (tzv. *Weekly iron and folic acid supplementation strategy - WIFS*) ⁽²⁰³⁾. Ista organizacija dala je i preporuku o univerzalnoj suplementaciji svih žena u drugom stanju kombinacijom prethodno navedenih nutrijenata (60 mg gvožđa, 400 µg folne kiseline) u sklopu preveniranja anemije i njenih zdravstvenih posledica u periodu intenziviranja potreba organizma majke ⁽²⁰⁴⁾

Uvažavajući značaj odgovarajućih nutritivnih javnozdravstvenih aktivnosti za preveniranje mikronutrijentne malnutricije i zdravstvenih rizika u osetljivim populacionim grupama, kao što su žene reproduktivne dobi i deca ^(205,206), sve navedene preporuke Svetske zdravstvene organizacije direktno su usmerene ka optimizaciji preventivnih strategija u oblasti realizacije Milenijumskih razvojnih ciljeva Ujedinjenih Nacija, koji se odnose na redukciju smrtnosti dece (cilj br.4) i unapređenje zdravlja majki (cilj br. 5) ^(204,207).

1.8 Strategije za optimizaciju unosa i statusa folata kod žena reproduktivne dobi

Širom sveta primenjene su tri osnovne grupe strategija koje imaju za cilj optimizaciju statusa folata kod ciljne grupe žena u reproduktivnom periodu ^(37,94,208,209):

- Prva podrazumeva promovisanje raznovrsne, adekvatno izbalansirane ishrane uz unos potrebne količine namirnica bogatih folatima.
- Druga grupa mera se odnosi na stimulisanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline i zdravstvenu edukaciju o njenom značaju u kontekstu planiranja zdravstvog potomstva.
- Treći pristup podrazumeva fortifikaciju odabranih namirnica koje su u širokoj i redovnoj upotrebi folatima.

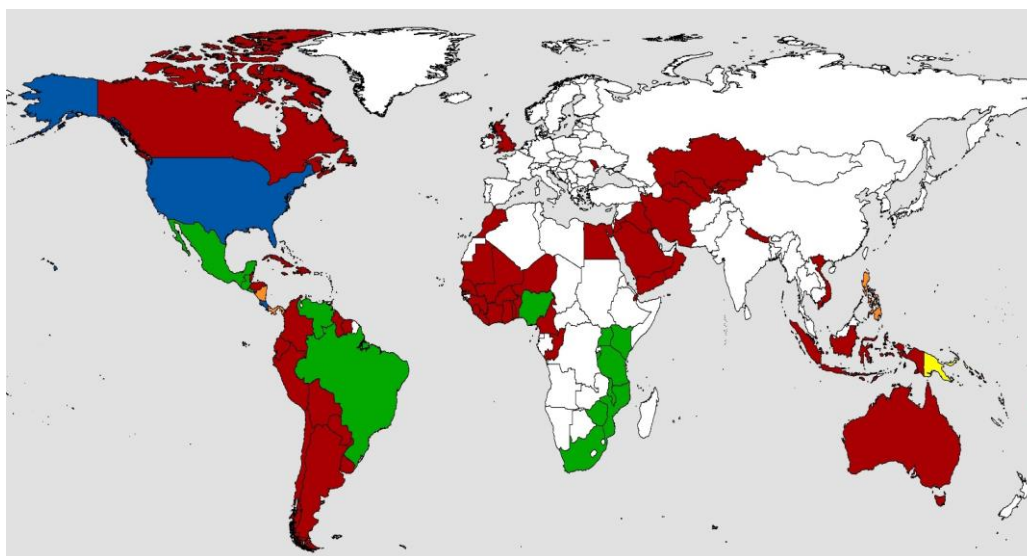
Sve pomenute strategije imaju specifične prednosti i nedostatke. Naime, opšte preporuke o unapređenju dijetarnih navika i povećanom unosu namirnica koje su prepoznate kao dobri izvori folata svakako dovodi do čitavog niza zdravstvenih benefita i generalne redukcije rizika od morbiditeta i preuranjenog mortaliteta. Ipak, kako na ishranu na nivou populacije utiču mnogi socioekonomski, kulturološki, klimatski i geografski faktori ovakve javnozdravstvene strategije imaju određena ograničenja. Takođe, ovakve mere podrazumevaju velika finansijska ulaganja, dug vremenski period kontinuirane posvećenosti relevantnih društvenih struktura, a česti su i problemi sa realizacijom željenog stepena adherence ciljnih grupa sa preporukama.

Drugi pristup koji se odnosi na suplementaciju predstavlja relativno jeftin, a efikasan način da se značajno preveniraju opisani zdravstveni rizici. Ipak, i kod ovih strategija postoje određene barijere u uspešnom ostvarivanju ciljeva. Na primer, finansijska dostupnost dijetetskih suplemenata problematična je za određene društvene grupe. Pored toga nizak nivo zdravstvene pismenosti kod određenog dela stanovništva može se smatrati

uzrokom nedovoljno razvijene svesti o značaju ovakve suplementacije. Dalje, čak i u najrazvijenijim zemljama sveta udeo neplaniranih trudnoća je prilično visok (oko 50 %), a budući da se se nervna cev razvija u ranim fazama gestacije (do 28. dana po začeću) preporuka je da se sa povećanim unosom folata počne pre začeća. Takođe, neophodno je obezbediti adekvatno angažovanje na nivou celokupnog zdravstvenog sistema u kontekstu zdravstvene edukacije žena u periodu planiranja porodice ⁽²¹⁰⁾.

Konačno, treći pristup koji se odnosi na kontrolisanu i strogo regulisanu fortifikaciju odabranih namirnica folatima označan je kao jedna od najuspešnijih javnozdravstvenih intervencija u poslednjih 50-75 godina ⁽²¹¹⁻²¹³⁾. Ovo je kompleksna strategija, koja kao mera za kontrolu mikronutrijentne malnutricije, mora biti naučno zasnovana i kreirana na osnovu podataka o unosu i statusu definisanog nutrijenta u populaciji. Ovi parametri predstavljaju polazne indikatore u procesu dizajniranja i implementacije programa, ali i kontrolne indikatore tokom monitoringa i evaluacije uspešnosti. Da bi se ostvarila željena efikasnost, ali i garantovala bezbednost neophodan je visok stepen odgovornosti i saradnje eksperata iz različitih oblasti. U SAD Agencija za hranu i lekove (*Food and Drug Administration - FDA*) je prepoznala fortifikaciju kao najefikasniji pristup koji će obezbediti najveći obuhvat populacione grupe od interesa i 1996. godine naredila da svi proizvodi od žitarica budu fortifikovani sa 140 µg folne kiseline na 100 g brašna ⁽²¹⁴⁾. Ovu praksu sledile su i mnoge druge zemlje kroz programe obavezne ili dobrovoljne fortifikacije proizvoda od pšeničnog i/ili kukuruznog brašna i/ili pirinča (Slika 7). Trenutno, 87 zemalja ima zakonom definisano obavezno obogaćivanje pomenutih proizvoda, a dodatno, 8 zemalja fortifikuje barem polovinu ukupne količine proizvedenog pšeničnog i/ili kukuruznog brašna iako to nije regulisano obavezujućom regulativom. Na globalnom nivou, uključujući i zemlje koje ne sprovode fortifikaciju, 34.1% pšeničnog brašna, 57.0% kukuruznog brašna i 0.7% pirinča, od ukupne, industrijski proizvedene količine, fortifikovano je najmanje folnom kiselinom ili gvožđem ⁽²¹⁵⁾.

U Republici Srbiji, kao i u većini evropskih zemalja nije uspostavljena politika obaveznog obogaćivanja osnovnih životnih namirnica folnom kiselinom, a dostupnost dobrovoljno fortifikovanih proizvoda je prilično skromna.



	Pšenično brašno– 67 zemalja
	Pirinač – 1 zemlja
	Pšenično i kukuruzno brašno–14 zemalja

	Pšenično brašno i pirinač – 3 zemlje
	Pšenično, kukuruzno brašno i pirinač – 2 zemlje
	Zemlje bez legislativne u vezi sa fortifikacijom folnom kiselinom

Slika 7. Ilustracija statusa legislativne u vezi sa fortifikacijom proizvoda od pšeničnog i/ili kukuruznog brašna i/ili pirinča folnom kiselinom.

Adaptirano prema: Food Fortification Initiative (FFI) (2017) Global Progress. *Mandatory Cereal Grain Legislative* http://www.ffinetwork.org/global_progress/.⁽²¹⁵⁾

1.9 Uloga farmaceuta i farmaceutskih tehničara u savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Blagovremena i adekvatna primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u kontekstu planiranja zdravog potomstva kod žena reproduktivne dobi predstavlja izuzetno značajno pitanje na nivou celokupnog društva. Da bi se realizovao pun potencijal ovakve preventivne mere neophodno je obezbediti sinhronizovane, organizovane i kontinuirane aktivnosti na nivou različitih društvenih struktura⁽¹⁸²⁾.

U procesu redukcije mortaliteta i morbiditeta majki i dece, Svetska zdravstvena organizacija ističe značaj kontinuiteta odgovarajuće nege i to u dve dimenzije: kroz

kontinuum životnog veka (od začeća, preko trudnoće, detinjstva i adolescencije do odraslog doba) i u kontekstu kontinuuma nege u zajednici, društvu i zdravstvenom sistemu (od primarnog preko sekundarnog do tercijarnog nivoa) ⁽²¹⁶⁾.

Perikonceptijska nega podrazumeva organizovane napore i intervencije usmerene ka identifikaciji i redukciji biomedicinskih, bihejvioralnih i društvenih faktora rizika, koji mogu da imaju negativne reperkusije na trudnoću i njene ishode. Cilj aktivnosti perikonceptijske nege je preveniranje i/ili upravljanje rizicima koji potencijalno ugrožavaju zdravlje i dobrobit majke i deteta ⁽²¹⁷⁾. U literaturi i praksi postoje različiti termini koji se koriste u vezi sa ovom temom, a, iako srodni, ovi pojmovi podrazumevaju određene semantičke i suštinske razlike. Naime, termin prekonceptijska nega podrazumeva pružanje preventivnih, zdravstveno-promotivnih i/ili kurativnih intervencija i usluga pre nego što dođe do začeća. U okviru prekonceptijske nege razlikuju se proksimalna (koja se odnosi na period do dve godine pre začeća) i distalna (koja se odnosi na period pre pomenutog bez daljih ograničenja). Perikonceptijska nega obuhvata period od tri meseca pre začeća i prva tri meseca po utvrđivanju trudnoće, a interkonceptijska nega se odnosi na period između dve trudnoće ⁽²¹⁶⁾.

Da bi se obezbedila efikasnost prekonceptijske nege i svi njeni zdravstveni, socijalni i ekonomski benefiti, neophodno je da se koordinisanim delovanjem različitih struktura društva i mehanizama zdravstvene zaštite, obezbedi odgovarajući stepen obaveštenosti i posvećenosti na nivou opšte populacije. To se može realizovati primenom različitih strategija i pristupa, a svi oni moraju zadovoljiti kriterijume praktične izvodljivosti, efektivnosti, dalekosežnosti, prijemčivosti i troškovne isplativosti.

Svetska zdravstvena organizacija, prepoznajući značaj adekvatnog unosa i statusa folata u kontekstu očuvanja i unapređenja zdravlja majki i planiranju zdravog potomstva, uvrstila je suplementaciju folnom kiselinom u globalno-preporučeni bazični tj. osnovni paket usluga prekonceptijske nege ⁽²¹⁶⁾. Pored finansijske pristupačnosti suplemenata pomenutog nutrijenta, potrebno je obezbediti i visok stepen informisanosti o zdravstvenim benefitima primene u ciljnoj populacionoj grupi. U tom procesu zdravstvene edukacije ključnu ulogu i

odgovornost imaju zdravstveni profesionalci. Kao pouzdani članovi društva oni mogu da daju značajan doprinos unapređenju maternalnog i zdravlja dece pružanjem tačnih, blagovremenih i na dokazima zasnovanih informacija i saveta.

Farmaceuti i farmaceutski tehničari, kao najdostupniji zdravstveni radnici, mogu imati posebno značajnu ulogu, budući da su idealno pozicionirani u sistemu zdravstvene zaštite da pruže sve potrebne informacije i savete da bi se obezbedila bezbedna i efikasna suplementacija. Članovi farmaceutskog tima, uz lekare opšte medicine, ginekologe i nutricioniste, imaju priliku da istaknu ulogu i značaj nedovoljnog ili povećanog unosa folata u perikonceptijskom periodu, stimulišu adherencu sa preporukama, ali i preveniraju štetne posledice koje mogu nastati usled deficita ili ukoliko se prekorače preporučene doze. Jedinstveno široka dostupnost javnih apoteka i brojni kontakti osoblja sa ženama reproduktivne dobi obezbeđuju platformu velikog strateškog potencijala za što veći obuhvat populacione grupe od interesa.

Diseminacija zdravstveno-promotivnih poruka u vezi sa folnom kiselinom i stimulisanje žena na usvajanje preventivnih mera podržana je i od strane Međunarodne farmaceutske federacije (FIP). Pomenuta organizacija, kroz politike i preporuke saglasne Intervencijama za unapređenje zdravlja majki, novorođenčadi i dece Svetske zdravstvene organizacije, ističe ulogu i odgovornost koji farmaceuti imaju u kontekstu ostvarivanja Milenijumskih razvojnih ciljeva Ujedinjenih nacija usmerenih ka smanjenju smrtnosti dece i unapređenju zdravlja majki (ciljevi 4 i 5) ^(218,219).

Jedna od četiri ključne uloge farmaceuta koju promovišu Svetska zdravstvena organizacija i Međunarodna farmaceutska federacija u okviru Dobre farmaceutske prakse odnosi se na doprinos poboljšanju efektivnosti sistema zdravstvene zaštite i javnog zdravlja ⁽²²⁰⁾. Organizovanim i kontinuiranim aktivnostima, koje su saglasne postulatima pomenutog konceptualnog okvira, farmaceuti, uz podršku farmaceutskih tehničara, mogu dati značajan doprinos unapređenju klinčkih, ekonomskih i humanističkih ishoda trudnoće.

U okviru svakodnevne prakse u javnim apotekama farmaceuti uobičajeno pružaju informacije i savete o lekovima, dijetetskim suplementima, higijenskim i kozmetičkim

proizvodima tokom procesa izdavanja ili u okviru odgovora na pitanja koja im pacijenti postavljaju. S druge strane, aktivnosti u okviru promocije upotrebe folne kiseline tokom planiranja začeca podrazumevaju i tzv. proaktivan pristup u zdravstvenom prosvetovanju, što podrazumeva „izlaganje“ pacijenata intervenciji za koju ne postoji latentan ili iskazan zahtev ⁽²²¹⁾. Interakcije sa pacijentkinjama reproduktivne dobi prilikom izdavanja kontracepcijskih preparata, sredstava za praćenje plodnih dana tokom ciklusa, testova za utvrđivanje trudnoće i vitaminsko-mineralnih suplemenata su prepoznate kao idealna prilika da farmaceuti pruže informacije o primeni folne kiseline i korelaciji sa redukcijom rizika od kongenitalnih anomalija, pravilnom vremenu započinjanja suplementacije i adekvatnoj dozi ⁽²²²⁾.

Da bi ostvarili pun potencijal koji kao deo zdravstvenog tima imaju, dali doprinos unapređenju zdravlja žena u reproduktivnom periodu i na adekvatan način odgovorili javnozdravstvenim potrebama društva, farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da raspolažu odgovarajućim znanjem o problematici, treba da postoji pozitivna percepcija važnosti ovih aktivnosti i motivisanost da se usluge vezane za promovisanje suplementacije folnom kiselinom uvedu u svakodnevnu radnu praksu u javnim apotekama.

2 CILJEVI

U skladu sa prethodno iznetim, formulisani su sledeći ciljevi istraživanja predložene doktorske disertacije:

1. Razvoj Upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji i procena njegove validnosti primenom metode trijade
2. Analiza znanja, stavova i prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama u Republici Srbiji u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata
3. Analiza znanja, stavova i informisanosti studenata završne godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu u vezi sa folatima
4. Analiza uticaja edukativne intervencije stavove, znanje i praksu farmaceuta i farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama u Srbiji u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

3 MATERIJALI I METODE

3.1 Prva studija: Validacija upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji

3.1.1 Metod trijade

U okviru ove studije validnost Upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji procenjena je u odnosu na referentni metod (ponovljene dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane) i biomarkere statusa folata (koncentracija folata u serumu i eritrocitima) primenom metode trijade ^(223,224). Ovaj triangulacioni metod za validaciju instrumenata za procenu dijetarnog unosa podrazumeva dostupnost kvantitativnih informacija o unosu određenog nutrijenta koje su generisane iz tri različita izvora. Zasniva se na utvrđivanju koeficijenta validacije ispitivanog upitnika na osnovu koeficijenata korelacije koji su izračunati između svih primenjenih metoda. Koeficijent validacije predstavlja korelaciju između unosa nutrijenta procenjenog pomoću FFQ-a i nepoznatog „stvarnog“ unosa nutrijenta ispitanika.

Uz uvažavanje činjenice da je FFQ zatvoreni tip upitnika koji se odnosi na dugoročno sećanje, a dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane otvoreni tip koji se odnosi na kratkoročno, ipak se smatra da ove dve metode zasnovane na samo-proceni ispitanika mogu imati slične izvore grešaka (problem prisećanja i procene veličine porcija)⁽⁷⁴⁾. Uključivanjem biohemijskih pokazatelja statusa nutrijenta kao treće varijable sa nezavisnim potencijalnim greškama pristup metode trijade omogućuje proširivanje validacionih parametara i sveobuhvatniju analizu ^(223–225).

Metod trijade zapravo se zasniva na specifičnoj primeni faktorske analize. Počiva na ideji da, iako se pravi (realni) unos nutrijenta ne može direktno meriti (latentna varijabla), može se proceniti na osnovu indikatora unosa i statusa (manifestne varijable) ^(223,226). Indikatori dijetarnog unosa su vrednosti procenjene primenom 24h anketa ishrane i FFQ-a, dok su indikatori statusa odgovarajući biohemijski pokazatelji.

Model podrazumeva sledeće pretpostavke:

- Postoji linearna povezanost između tri analizirane varijable i stvarnog (realnog) unosa
- Specifični faktori su međusobno nezavisni tj. korelacija između bilo kog para varijabli potiče od povezanosti svake od varijabli ponaosob sa stvarnim unosom, a ne od inherentnih grešaka primenjenih metoda (24h ankete ishrane, FFQ, biomarkeri statusa)

Koeficijenti validacije određeni primenom metode trijade imaju vrednosti između 0 i 1, za razliku od vrednosti koeficijenta korelacije (r) koji imaju vrednosti između -1 i 1. Za izračunavanje koeficijenta validacije (ρ) primenjuju se sledeće formule (u kojima B označava biomarkere statusa, Q upitnik o učestalosti konzumacije namirnica (FFQ), a R dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane):

$$(1) \rho_{QI} = \sqrt{\frac{r_{QR} \times r_{QB}}{r_{BR}}};$$

$$(2) \rho_{RI} = \sqrt{\frac{r_{QR} \times r_{BR}}{r_{QB}}};$$

$$(3) \rho_{BI} = \sqrt{\frac{r_{BR} \times r_{QB}}{r_{QR}}};$$

Ukoliko su utvrđeni koeficijenti korelacije između manifestnih varijabli niski, to implicira da bar jedna od varijabli nije dobar indikator stvarnog (realnog) unosa. Rezultat takve situacije su niske vrednosti koeficijenta validacije praćeni širokim intervalima pouzdanosti ^(223,224). Interval pouzdanosti za srednju vrednost koeficijenta validacije za 95% populacije predstavlja raspon u kome se, sa određenom verovatnoćom, može očekivati da se nalazi srednja vrednost koeficijenta validacije za ispitivanu populaciju, i što je manja širina intervala pouzdanosti veća je vrednost zaključka ^(223,224,226).

3.1.2 Ispitanici

Tokom perioda od godinu dana, od juna 2014.godine do jula 2015.godine, sprovedena je studija preseka sa ciljem da se ispituju dijetarni unos i biomarkeri statusa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji. Tokom perioda regrutacije ispitanica informativni štampani materijal tj. letak sa pozivom za učešće u studiji, definisanom temom i ciljevima istraživanja, predviđenim aktivnostima u okviru studije, kao i pravima i obavezama potencijalnih učesnika bio je dostupan u odabranim ustanovama primarne zdravstvene zaštite (javnim apotekama i domovima zdravlja) širom zemlje, u određenim obrazovnim institucijama, kao i putem sajta Centra izuzetne vrednosti za istraživanje u oblasti ishrane i metabolizma.

- Kriterijumi za uključivanje u studiju bili su: ženski pol, starost između 18 i 49 godina i redovan menstrualni ciklus.
- Kriterijumi za isključivanje iz studije bili su: trudnoća, dojenje, primena lekova koji stupaju u interakciju sa metabolizmom folata, hormonska supstitucija i menopauza.

Ispitanicima nije bila nuđena nikakva materijalna stimulacija/nadoknada za učešće u studiji. Od svih ispitanika obezbeđena je informisana saglasnost za učešće u studiji u pisanom obliku.

3.1.3 Antropometrijska merenja

Antropometrijska merenja obuhvatila su merenje telesne visine i težine ispitanica odevenih samo u laganu odeću, bez obuće. Visina je merena sa preciznošću od 0.1 cm (Perspective Enterprises, Kalamazoo, Mich., SAD), a telesna težina sa preciznošću od 0.1 kg (TBF-300, Tanita Corp., Japan). Indeks telesne težine (*Body Mass Index – BMI*) izračunat je prema formuli: $BMI = \text{telesna masa (kg)} / \text{telesna visina}^2 \text{ (m}^2\text{)}$ ⁽²²⁷⁾

3.1.4 Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji (*Folate Food Frequency Questionnaire – F-FFQ*)

U razvoju upitnika primenjena je kombinacija validiranog upitnika za procenu unosa folata iz Republike Hrvatske ⁽²²⁸⁾ i NCI/ Block Health Habits and History Questionnaire ⁽²²⁹⁾ uz dodatnu adaptaciju odnosno dopunu lokalno dostupnim namirnicama i tradicionalnim jelima iz Srbije.

Analizu pregledne (eng. *face validity*) i sadržinske validnosti (eng. *content validity*) upitnika sprovela je grupa eksperata iz Centra izuzetne vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma Instituta za medicinska istraživanja, Univerziteta u Beogradu. Nakon što su stručnjaci potvrdili saglasnost sa predloženom strukturom i sadržajem, upitnik je testiran u okviru pilot-studije na 20 ispitanica (žena reproduktivne dobi) koje nisu bile deo uzorka glavne studije. Cilj pilot-studije bila je kontrola i unapređenja jasnoće, preglednosti i formata upitnika.

Upitnik je dizajniran tako da se procenjuje konzumacija hrane i napitaka u periodu od prethodna tri meseca, a nakon detaljnog objašnjenja procedure, ispitanice su samostalno popunjavale opisani upitnik, u prisustvu obučenog istraživača. Ispitanicama je bilo dostupno sedam odrednica za utvrđivanje učestalosti konzumacije (nikada, jednom mesečno, 2-3 puta mesečno, jednom nedeljno, 2-3 puta nedeljno, 4-6 puta nedeljno, svakodnevno), a za veličine porcija određenih namirnica po pojedinačnom obroku opredeljivale su se na osnovu pridruženih fotografija. Pored unapred definisanih porcija, ispitanici su imali mogućnost i da samostalno evidentiraju količinu, ukoliko nijednu od predloženih opcija nisu smatrali adekvatnom. Prosečno vreme potrebno za popunjavanje upitnika iznosilo je 15-30 minuta.

Učestalost konzumacije prema izveštaju ispitanica konvertovana je u frekvencu po danu tako da je numerička vrednost 1 pridružena svakodnevnoj konzumaciji. Procena

konzumirane količine na dnevnom nivou za svaku od 90 namirnica navedenih u upitniku izvršena je množenjem dnevnog ekvivalenta učestalosti konzumiranja odabranom veličinom uobičajene porcije.

Dodatno, s ciljem da se unapredi interpretacija rezultata F-FFQ-a, u upitnik je inkorporiran i set opštih pitanja koji su se odnosili na starost ispitanica, nivo obrazovanja, medicinsku istoriju, upotrebu dijetetskih suplemenata i lekova i faktore životnog stila ,kao što su stepen fizičke aktivnosti, pušenje, konzumacija alkohola, čaja i kafe.

3.1.5 Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane

Dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane (24-hour Dietary Recall) predstavljaju retrospektivne, kvantitativne instrumente za procenu dijetarnog unosa na individualnom nivou. U okviru strukturisanog intervjua od ispitanica su prikupljeni podaci o kompletnoj konzumaciji hrane i pića u prethodna 24 časa. Sve ankete realizovane su kroz direktne, usmene intervjue (eng. *face-to-face*) koje je vodio obučeni istraživač prema unapred definisanom, standardizovanom protokolu ⁽⁴⁹⁾. Tom prilikom informacije su beležene u odgovarajući upitnik po hronološkom redu. Evidentirani su vreme i mesto konzumacije, naziv namirnice ili jela, način pripreme ili obrade i konzumirana količina. Da bi se olakšalo prisećanje ispitanika, unapredila pouzdanost i obim prikupljenih informacija, tokom sprovođenja intervjua primenjena je tehnika višestrukog prelaza (eng. *multiple-pass technique*). Prosečno vreme trajanja intervjua iznosilo je 15-30 minuta.

Kako bi se uvažila intraindividualna dijetarna varijabilnost tj. varijabilnost koja potiče od razlika u konzumaciji među danima, u istraživanju je primenjen pristup ponovljenih dvadesetčetvoročasovnih anketa ishrane. Sprovedene su tri ankete ishrane po ispitaniku tokom poslednje dve nedelje perioda koji je obuhvaćen upitnikom o učestalosti konzumiranja namirnica, i to tako da su obuhvaćena dva radna i jedan neradni dan. Kalendar istraživanja razvijen je tako da se na nivou kompletne grupe ispitanika osigura odgovarajuća zastupljenost svih dana u nedelji.

S ciljem da se prevaziđu problemi vezani za tačnost procene veličine porcija korišćen je Atlas hrane (eng. *Food atlas*)^(230,231), sa fotografijama različitih porcija namirnica i jela čiji je odabir napravljen na osnovu prethodno sprovedenih nacionalnih studija. Za svaku stavku bilo je dostupno četiri do devet porcija koje su izmerene pomoću etalonirane digitalne vage. Podaci o masi ispitanicima nisu prikazivani, već su naknadno evidentirani od strane istraživača udruživanjem koda kojim je selektovana fotografija označena sa odgovarajućim ciframa. Sve fotografije u pomenutom Atlasu su načinjene na standardizovan, uniforman način, uz identično osvetljenje, pozadinu i udaljenost pri fotografisanju, tako da je jasno prikazan poredbeni faktor (npr. tanjir, čaša ili pribor za jelo definisanih dimenzija), kao pomoćno sredstvo pri odabiru.

3.1.6 Obrada dijetarnih upitnika

Obrada oba tipa dijetarnih upitnika sprovedena je primenom softverske aplikacije za standardizovano i harmonizovano prikupljanje podataka o konzumaciji hrane i dijetetskih suplemenata, sveobuhvatnu analizu dijetarnog unosa i planiranje ishrane – Diet Assess & Plan, koja je prethodno korišćena u okviru nacionalnih, regionalnih i međunarodnih projekata i evaluirana od strane Evropske agencije za bezbednost hrane (*European Food Safety Authority - EFSA*)⁽²³⁰⁻²³³⁾.

Preračun unosa makro i mikronutrijenata realizovan je na osnovu Srpske baze podataka o sastavu namirnica, koja je razvijena u okviru Centra izuzetnih vrednosti u oblasti istraživanja ishrane i metabolizma (Institut za medicinska istraživanja, Univerzitet u Beogradu) i harmonizovana sa EuroFIR standardima⁽³²⁾. Kod ispitanica koje koriste dijetetske suplemente u obzir su uzeti podaci o sadržaju folne kiseline prema specifikacijama proizvođača i informacije o učestalosti i dužini primene, kao i korišćenoj dozi. Ukupan unos folata izražen je kao μg dijetetskih folatnih ekvivalenata (DFE)/dan na osnovu formule:

$$\mu\text{g DFE} = [\mu\text{g folata iz hrane} + (1.7 \times \mu\text{g sintetske folne kiseline})]^{(14)}$$

Izračunate vrednosti dijetarnog unosa naknadno su upoređene sa referentnim vrednostima za odrasle osobe, koje predlaže Svetska zdravstvena organizacija, a odnose se na Procenjene prosečne potrebe (*Estimated Average Requirements* – EAR; 320 µg/dan) i Preporučeni unos nutrijenta (*Recommended Nutrient Intake* – RNI; 400 µg/dan) ⁽¹⁴⁾.

3.1.7 Analiza biohemijskih pokazatelja statusa folata

Za podgrupu od oko 50 ispitanica odabranih metodom slučajnog izbora iz glavnog uzorka određeni su biomarkeri statusa folata u serumu i eritrocitima iz uzorka venske periferne krvi. Broj ispitanica koje su uključene u podgrupu definisan je na osnovu vodiča *European Micronutrient Recommendations Aligned Network of Excellence (EURRECA)* koji upućuje na zadovoljavajući uzorak od 50 ispitanika za studije validacije kada se biomarkeri statusa koriste kao referentni metod ⁽²³⁴⁾. Takođe, sličan ili manji uzorak opisan je u drugim studijama čiji je cilj bio procena validnosti upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica primenom metode trijade ^(235–238).

Koncentracija folata u serumu predstavlja indikator akutnog statusa folata i podleže fluktuacijama shodno tranzitornim promenama na nivou unosa, dok se koncentracija u eritrocitima smatra dobrim pokazateljem dugoročnog statusa. Naime, folat se u crvenim krvnim ćelijama inkorporira tokom samog formiranja u kostnoj srži i nivo ostaje relativno konstantan tokom životnog veka eritrocita (oko 120 dana). Navedeni parametar predstavlja i pouzdani indikator zaliha folata budući da koncentracija u eritrocitima dobro korelira sa nivoom folata u jetri ⁽⁸⁰⁾.

Nakon noćnog gladovanja ispitanika uzorkovanje krvi sprovedo je akreditovano tehničko lice u roku od dva dana od dana popunjavanja upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica, a ceo proces je sproveden u skladu sa postulatima dobre laboratorijske prakse. Analize su, nakon uzorkovanja, sprovedene bez odlaganja. Uzorci su prikupljeni u dve vrste plastičnih epruveta (*BD Vacutainer; Becton, Dickenson and Company, Plymouth, United Kingdom*):

- Epruvete sa gel separatorom, koje sadrže silikon koji je aktivator koagulacije i gel koji predstavlja barijeru između koaguluma i seruma nakon centrifugiranja za određivanje koncentracije folata u serumu
- Epruvete sa antikoagulansom trikalijumetilendiaminotetrasićetnom kiselinom (K₃EDTA) za određivanje koncentracije folata u eritrocitima

Za određivanje statusa primenjeni su testovi vezivanja (eng. *binding assay*) za *in vitro* kvantitativno određivanje folata u humanom serumu i eritrocitima, koji su saglasni Međunarodnom standardu za određivanje folata Svetske zdravstvene organizacije (*Folate WHO International Standard 03/178*). Tom prilikom su korišćeni komercijalno dostupan komplet reagenasa *Abbott Architect folate kit (Architect Folate Reagent Kit, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)* zasnovan na hemiluminiscentnoj mikročestičnoj imunoesej tehnologiji (*Chemiluminiscent Microparticle Immunoassay (CMIA)*), kao i *Architect i200 analizator (Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA)*. Posebna pažnja posvećena je zaštiti uzoraka, kontrolnih i kalibracionih materijala od uticaja svetlosti. Pre pripreme hemolizata, prema uputstvima proizvođača, utvrđen je hematokrit uzorka koji je tretiran antikoagulansom K₃EDTA i namenjen određivanju koncentracije folata u eritrocitima ⁽²³⁹⁾.

Tačnost eseja potvrđena je primenom referentnih kontrolnih materijala (*ARCHITECT Folate Controls, Abbott Laboratories, Abbott Park, IL, USA*) u tri nivoa – sa niskom, srednjom i visokom koncentracijom analita i svi rezultati su bili u okviru graničnih vrednosti koje je specificirao proizvođač. Sve analize su rađene u duplikatu. Koeficijenti varijacije (CV) u okviru serije analiza (eng. *intra-assay coefficients of variation*) za koncentraciju folata u serumu i eritrocitima iznosili su 4.3% i 4.7%, dok su koeficijenti varijacije između serija (eng. *inter-assay coefficients of variation*) iznosili 6.1% i 6.3%, redom.

Na osnovu klasifikacije i graničnih vrednosti koje predlaže Svetska zdravstvena organizacija, koncentracije folata u serumu <6.8 nmol/L smatrane su indikativnim za deficijenciju, vrednosti između 6.8 nmol/L i 13.4 nmol/L za moguću deficijenciju, a

koncentracije >13.5 nmol/L uzete su kao pokazatelj adekvatnog statusa. Kada je reč o koncentraciji folata u eritrocitima, vrednosti <340 nmol/L smatrane su indikatorom deficijencije, a vrednosti ≥ 906 nmol/L kao znak statusa koji obezbeđuje najveću redukciju rizika od nastanka defekata nervne cevi kod ploda u slučaju trudnoće ^(83,87).

3.1.8 Statistička obrada podataka validacione studije

Normalnost raspodele podataka analizirana je Shapiro-Wilk testom za ukupan uzorak i validacionu podgrupu, zasebno. U situacijama kada je raspodela statistički značajno odstupala od normalne, pre analize je primenjena log transformacija. Za sve parametre, razlike između ukupnog uzorka i podgrupe su testirane primenom Wilcoxon Rank Sum testa.

Više statističkih tehnika je primenjeno u evaluaciji validnosti razvijenog Upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji (F-FFQ). Pearson-ovi koeficijenti korelacije su izračunati da bi se ispitala povezanost između dijetarnog unosa folata procenjenog primenom F-FFQ-a i dvadesetčetvoročasovnih anketa ishrane na sirovim i energetski-prilagođenim podacima, ponaosob za ukupni uzorak i validacionu podgrupu ⁽²⁴⁰⁾. Slaganje među metodama je dodatno ispitano analizom unakrsne klasifikacije (eng. *cross-sectional analyses*). Naime, kako bi se sagledala sposobnosti F-FFQ-a da svrsta ispitanice u iste kvartile po unosu folata kao 24h ankete ishrane i biomarkeri statusa, na osnovu dobijenih rezultata svih navedenih metoda sprovedena je klasifikacija varijabli u kvartile (tj. u četiri grupe podeljene 25-im percentilom, medijanom i 75-im percentilom) i izvršeno je njihovo poređenje. Slaganje u rangiranju je izraženo kao % ispitanica koje su svrstane u isti, isti ili susedni, udaljeni (prvi i treći ili drugi i četvrti) ili apsolutno suprotni kvartil (prvi i četvrti). Rang varijable koja odgovara P-om percentilu u uzorku izračunata je primenom formule $(P/100) \times (1+n)$, gde je n broj ispitanika tj. obezrvacija. Budući da je broj ispitanica u

podgrupi bio 50 ovako izračunati rangovi nisu bili celi brojevi, pa je izvršeno zaokruživanje na najbliži redni broj ⁽²⁴¹⁾.

Linerana regresiona analiza, prilagođena uslovima istraživanja, primenjena je s ciljem ispitivanja postojanja statistički značajnog linearnog trenda između dijetarnog unosa (procenjenog pomoću 24h anketa ishrane i F-FFQ-a) i određenih biomarkera statusa folata.

Dodatno, s ciljem da se vizualizuje slaganje između rezultata dobijenih primenom F-FFQ-a i ponovljenih 24h anketa ishrane, konstruisani su Bland-Altman grafici. Aritmetička razlika između vrednosti unosa procenjenih primenom dve pomenute metode (F-FFQ – prosek tri 24h ankete ishrane) za svaku ispitanicu predstavljena je u odnosu na prosečnu vrednost unosa na osnovu ovih metoda ((F-FFQ + prosek tri 24h ankete ishrane)/2) . Devedesetpetopostotni limiti slaganja (eng. *Limits of Agreement – LoA*) izračunati su kao srednja razlika ± 1.96 standardnih devijacija (eng. *Standard Deviation – SD*).

Konačno, primenjen je i sveobuhvatni triangulacioni pristup validaciji instrumenta – Metod trijade ^(223,223). Prema modelu trijada, najpre su izračunati Pearsonovi koeficijenti korelacije (rQB, rRB, rQR) između podataka dobijenih svakom od tri primenjene metode:

- unosa folata procenjenog pomoću F-FFQ (Q),
- srednje vrednosti unosa folata određenog na osnovu tri ponovljene 24h ankete ishrane (R)
- pokazatelja statusa (koncentracije folata u serumu i eriocitima) (B)

Potom je koeficijent validacije F-FFQ-a (ρ_{QI}) izračunat na osnovu koeficijenata korelacije između FFQ-a i biomarkera (rQB), 24h anketa ishrane i biomarkera (rBR) i FFQ-a i 24h anketa ishrane (rQR) primenom sledeće formule:

$$\rho_{QI} = \sqrt{r_{QB} \times \frac{r_{QR}}{r_{BR}}}$$

Koeficijent validacije F-FFQ-a (ρ_{QI}) predstavlja korelaciju između unosa nutrijenta procenjenog pomoću ovog instrumenta i nepoznatog stvarnog (realnog) unosa nutrijenta ispitanika (I). Za izračunavanje 95% intervala pouzdanosti koeficijenta validacije primenjen

je tzv. bootstrap metoda ponovljenog uzorkovanja, koja je zasnovana na ponavljanju izvorne analize sa velikim brojem skupova podataka, koji su generisani iz pocetnog skupa (223,242).

Kompletna statistička analiza u ovoj studiji realizovana je primenom R softverskog paketa (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria) ⁽²⁴³⁾, a p vrednost < 0.05 je postavljena kao granična za utvrđivanje statističke značajnosti.

3.2 Druga studija: Analiza znanja, stavova i prakse članova farmaceutskog tima- farmaceuta i farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama u Republici Srbiji u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Sprovedena je kvantitativna studija preseka zasnovana na primeni namenski kreiranih upitnika s ciljem ispitivanja znanja, stavova i prakse (*cross-sectional study, KAP-knowledge, attitudes and practice study*) farmaceuta, farmaceutskih tehničara i studenata farmacije u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata u periodu od oktobra 2015.godine do decembra 2016.godine.

3.2.1 Ispitanici

U ovu studiju uključene su dve grupe ispitanika.

Prvu grupu činili su diplomirani farmaceuti/magistri farmacije i farmaceutski tehničari zaposleni u državnim i privatnim javnim apotekama u Srbiji sa važećom licencom (odobrenjem za samostalni rad izdatom od nadležne Komore tj. Farmaceutske komore Srbije i Komore medicinskih sestara i zdravstvenih tehničara Srbije), kao i diplomirani farmaceuti/magistri farmacije koji su, u trenutku istraživanja, obavljali pripravnički staž u javnim apotekama.

S ciljem da se osigura reprezentativnost uzorka za populaciju od 5803 farmaceuta sa licencom, za izračunavanje potrebne veličine uzorka primenjena je formula koju su predložili Krejcie i Morgan ⁽²⁴⁴⁾.

$$S = X^2 NP(1-P) / d^2 (N-1) + X^2 P(1-P)$$

S- Potrebna veličina uzorka

X- z-vrednost (z=1.96 za 95% nivo pouzdanosti)

N- Broj jedinki u celoj populaciji

P- Udeo populacije (izražena kao decimalna vrednost; pretpostavka: P=0.5 tj 50%)

d- Stepen tačnosti izražen kao proporcija (0.05); margina greške od 5%

Potreban broj ispitanika prema navedenoj formuli (n=385) korigovan je za anticipiranu stopu odustajanja (d=20%) primenom formule $N = n / (1-d/100)$ što je rezultovalo ukupnim brojem od N=481 subjekata ⁽²⁴⁵⁾.

Registar Farmaceutске Komore Srbije korišćen je kao uzorački okvir, a definisane su geografske kvote prema pripadnosti redovnih članova njenim regionalnim ograncima, tako da zastupljenost ispitanika po ograncima bude saglasna aktuelnim podacima o članstvu. U skladu sa tim, uzorak je podeljen na četiri homogene grupe tj. stratum: stratum Beograd, glavni grad (37.92% farmaceuta); stratum Vojvodina, severna autonomna pokrajina (21.83% farmaceuta); stratum Kragujevac, koji predstavlja centralnu i zapadnu Srbiju (23.19% farmaceuta), i stratum Niš sa Kosovom i Metohijom, koji predstavlja južnu i istočnu Srbiju (17.04% farmaceuta).

Pri regrutaciji ispitanika uključene su sve apoteke iz Uredbe o planu mreže zdravstvenih ustanova ⁽²⁴⁶⁾, kao i odgovarajući broj privatnih apoteka koje imaju ⁽²⁴⁷⁾ i koje nemaju sklopljen ugovor sa Republičkim fondom za zdravstveno osiguranje. Učešće u studiji ponuđeno je svim farmaceutskim tehničarima i farmaceutima stažerima, koji su zaposleni u istim javnim apotekama kao i regrutovani farmaceuti. Dodatno je regrutacija ispitanika i distribucija upitnika organizovana na stručnim skupovima i kursevima kontinuirane edukacije kojima jednak pristup imaju svi farmaceuti i farmaceutski tehničari.

Drugu grupu ispitanika u drugoj studiji ove disertacije predstavljali su studenti završne (pete) godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Istraživanje je realizovano u periodu mart – maj 2016.godine, a učešće u studiji ponuđeno je svim studentima koji su bili prisutni na Fakultetu na dane koji su unapred definisani kalendarom regrutacije.

3.2.2 Prikupljanje podataka

Po dobijanju saglasnosti direktora odnosno vlasnika apoteke glavni istraživač je lično dostavljao strukturisane validirane upitnike u apoteku u prethodno definisanom terminu, kako se ne bi remetilo redovno odvijanje radnih zadataka. Uz upitnik su dostavljani i prateći materijali: propratno pismo, kopija odobrenja Etičkog komiteta, kao i uvodni tekst sa jasno specificiranim organizatorom i ciljem istraživanja, vremenom predviđenim za popunjavanje upitnika, načinom na koji će prikupljeni podaci biti korišćeni i prezentovani. Eksplicitno je navedeno i da samim popunjavanjem upitnika ispitanik daje informisanu saglasnost za učešće u istraživanju.

Studenti završne godine Farmaceutskog fakulteta, informisani su o sprovođenju studije na terminima praktičnih vežbi, a svi zainteresovani su mogli da pristupe popunjavanju upitnika u bilo kom terminu tokom kalendarom studije unapred definisanih dana, tako da ne remete svoje redovne obaveze.

Učešće u studiji je bilo dobrovoljno, a popunjavanje upitnika anonimno uz podrazumevanu potpunu zaštitu identiteta ispitanika. Ispitanicima nije nuđena nikakva materijalna nadoknada za ispunjavanje upitnika. Istraživač je tokom popunjavanja upitnika bio dostupan u slučaju bilo kakvih dodatnih pitanja ili nedoumica. Ispitanicima nisu nuđene nikakve materijalne stimulacije i mogli su da se u bilo kom trenutku povuku iz studije bez ikakvih objašnjenja ili sankcija.

3.2.3 Upitnik za procenu znanja, stavova i prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

U okviru studije primenjen je strukturisani, namenski kreiran upitnik, prilagođen ciljevima istraživanja i ciljnoj populacionoj grupii. Instrument je razvijen na osnovu detaljnog pregleda literature i uz ekpertske konsultacije. Grupa stručnjaka je, nakon pažljivog pregleda, analize i diskusije inicijalnog/preliminarnog seta pitanja odabrala finalni skup. Jedanaestočlani panel koji je činilo pet iskusnih farmaceuta, četiri eksperta u oblasti istraživanja ishrane, psiholog i statističar evaluirali su parametre pregledne i sadržajne validnosti (eng. *face and content validity*) instrumenta tj. relevantnost, razumljivost, jasnoću i logičnost sleda pitanja, organizacionu strukturu upitnika, terminologiju i sveobuhvatnost⁽²⁴⁸⁾.

U procesu dodatnog prečišćavanja, nacrt upitnika (draft verzija) podvrgnuta je pretestiranju u kome je učestvovalo 10 farmaceuta i 7 farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama. Učesnici pilot studije diskutovali su o sledećim pitanjima:

- Da li su pitanja jasna i potpuno razumljiva?
- Da li je struktura upitnika pregledna?
- Da li su ponuđeni odgovori logični?
- Da li je ponuđen adekvatan opseg mogućih odgovora?
- Koliko je potrebno vreme za popunjavanje upitnika?
- Da li je broj pitanja adekvatan, a sadržaj prilagođen ciljevima istraživanja?

Potrebne izmene, koje su se uglavnom odnosile na jezičko-terminološke korekcije i raspored pitanja, unete su shodno njihovim zapažanjima.

Nakon što je potvrđena prihvatljivost instrumenta, razumljivost upitnika i pratećih instrukcija za ispunjavanje, sprovedena je pilot studija na prigodnom uzorku (n=56) farmaceuta i farmaceutskih tehničara, kako bi se ispitala izvodljivost studije (eng. *feasibility*) i pouzdanost (eng. *reliability*) upitnika. Cronbach alfa vrednosti generisane za sekcije upitnika koje se odnose na znanje i stavove zadovoljile su *a priori* definisanu

graničnu vrednost prihvatljivosti od $\alpha=0.7$ ($\alpha_{\text{znanje}}=0.823$; $\alpha_{\text{stavovi}}=0.789$), što je ukazalo na dobru internu konzistentnost instrumenta.

Struktura i sadržaj finalne verzije upitnika obuhvatila je četiri celine. Prvi segment se odnosi na opšte informacije o ispitaniku. U okviru ovog dela upitnika prikupljeni su podaci o:

- Sociodemografskim karakteristikama ispitanika
 - pol, starost, bračni status, potomstvo
- Obrazovanju i profesionalnom angažmanu ispitanika
 - najviši stepen formalnog obrazovanja, godine radnog staža u apotekarskoj praksi, tip apoteke u kojoj su zaposleni i geografski region u kome se nalazi ustanova u kojoj su zaposleni

Drugu celinu upitnika predstavlja niz izjava sa pet nivoa slaganja (po principu Likertove skale: uopšte se ne slažem, delimično se ne slažem, neutralan stav, delimično se slažem, u potpunosti se slažem) kojom su ispitanici stavovi farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata, kao i stepen motivisanosti za unapređenje znanja i intenziviranje napora u kontekstu promocije adekvatnog unosa folata u ciljnoj populaciji. Ispitanici su stavovi ispitanika o:

- Značaju primene djetetskih suplemenata folne kiseline u cilju planiranja zdravog potomstva,
- Sopstvenoj ulozi u edukaciji žena o ovoj temi i promociji reproduktivnog zdravlja
- Razmerama javno-zdravstvenog problema koji predstavljaju kongenitalne anomalije u kontekstu morbiditeta, mortaliteta, društvenih troškova i ljudske patnje

Treći deo upitnika odnosi se na praksu farmaceuta i farmaceutskih tehničara u oblasti informisanja i savetovanja žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata i obuhvata sledeće teme:

- **I tema:** Izvori informacija o folatima
 - Identifikacija glavnih izvora informacija ispitanika o preporučenom unosu, ulozi i značaju folata
 - Utvrđivanje kada su ispitanici poslednji put imali pristup ovim informacijama
 - Da li su do njih došli samoinicijativno
 - Da li su zainteresovani za dodatnu edukaciju o ovoj temi

- **II tema:** Aktuelna praksa u savetovanju žena o adekvatnom unosu folata
 - Procena učestalosti pružanja informacija, u kojim prilikama se te informacije pružaju pacijentima, kao i da li se to čini samoinicijativno ili nazahtev/pitanje pacijenata.
 - Analiza obima pruženih informacija odnosno da li i sa kojom učestalošću farmaceuti i farmaceuski tehničari informišu žene o:
 - prirodnim izvorima folata,
 - preporučenim vrednostima unosa,
 - interakcijama u koje stupaju folati sa lekovima,
 - adekvatnom trenutku za započinjanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline i dužini primene tokom planiranja trudnoće,
 - posledicama neadekvatnog statusa folata biološkoj raspoloživosti folne kiseline u zavisnosti od toga da li se uzima na prazan stomak ili uz obrok

- **III tema:** Barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata pripadnicama ciljne populacije
 - Identifikacija faktora koji ometaju sprovođenje aktivnosti vezane za pružanje pomenutih informacija tokom svakodnevne radne prakse u apotekama
 - Razmatranje potencijalnih problema kao što su:
 - nedostatak vremena i/ili adekvatnog prostora u apoteci,
 - nezainteresovanost pacijentkinja,
 - nepostojanje materijalne stimulacije za pružanje ove usluge,
 - tabu teme planiranja potomstva i prevencije kongenitalnih anomalija,
 - nedostatak znanja i/ili motivacije farmaceuta i farmaceutskih tehničara,
 - nedovoljna dostupnost informacija o preporukama vezanim za unos folata.

Treći segment upitnika sadrži 15 pitanja koja su po tipu kombinacija pitanja sa više ponuđenih odgovora i pitanja gde su odgovori predstavjeni u formi Likertove skale učestalosti sprovođenja određenih aktivnosti.

Četvrti deo upitnika predstavlja test znanja u ovoj oblasti. Pitanja su obuhvatila ključne teme vezane za folate kao nutrijente od izuzetnog značaja za zdravlje. Neke od njih su: izvori folata, poreklo i biološka raspoloživost folne kiseline, uloga u organiznu i značaj za zdravlje, preporučene vrednosti unosa za opštu populaciju i specifične grupe od posebnog interesa, adekvatan trenutak za započinjanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline, kao i dužina primene tokom planiranja trudnoće. Ukupno je bilo 13 pitanja sa više ponuđenih odgovora, pri čemu je samo jedan odgovor bio tačan, što je ispitanicima jasno i naznačeno.

Studenti završne (pete) godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu su popunjavali prilagođeni upitnik iz koga je izostavljen segment koji se odnosi na praksu u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata i obuhvata prethodno opisane delove koji se odnose na opšte informacije o ispitaniku, stavove i znanja u ovoj oblasti.

3.2.4 Statistička obrada podataka KAP studije

Deskriptivna i inferencijalna statistička analiza realizovane su primenom Statističkog paketa za društvene nauke - *Statistical Package for Social Science (SPSS)* (verzija 22, SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Numerički podaci su predstavljani kao frekvencije u slučaju kategoričkih varijabli, odnosno kao srednja vrednost \pm standardna devijacija u slučaju kontinuiranih varijabli. S ciljem testiranja razlika između grupa kod kontinuiranih varijabli primenjeni su Studentov t-test i Analiza varijanse (ANOVA) sa Tukey post-hoc testom, dok je za kategoričke varijable korišćen χ^2 tj. Chi-kvadrat test.

Svaki tačan odgovor na testu znanja vrednovan je jednim poenom. Ukupan skor na testu znanja, koji predstavlja sumarnu vrednost za sva pitanja iz ovog dela upitnika, imao je teorijski opseg od 0 do 13 poena. Ispitana su i metrijska svojstva testa znanja i to kroz analizu težine pitanja, diskriminativnosti i pouzdanosti.

Utvrđen je indeks težine za svako pitanje kao udeo ispitanika koji su dali tačan odgovor na to pitanje u odnosu na ukupan broj ispitanika. Optimalan opseg indeksa težine definisan je na okvir 25-75%, tako da su pitanja sa indeksom težine ispod 25% označena kao veoma teška, a ona kod kojih je učestalost tačnog odgovora u ispitivanoj kohorti bila preko 75% kao veoma laka. Procenjena je i diskriminativnost pitanja, kao grubo indikativno postignuća odnosno sposobnost pitanja da razlikuje ispitanike koji su uspešni od onih koji su neuspešni na celom testu. Diskriminativnost je izražena kao pointbiserijalna korelacija između skora na nivou svakog pojedinačnog pitanja i finalnog rezultata na testu. Vrednost korelacionog koeficijenta niža od 0.2 ukazuje da pitanje meri drugačiji koncept u odnosu na upitnik u celini, pa registrovanje takvih vrednosti dovodi u pitanje opravdanost pitanja. Pouzdanost testa znanja procenjena je izračunavanjem Cronbach's α koeficijenta za ukupan skor na testu. Prema optšte prihvaćenom kriterijumu, pouzdanost je smatrana prihvatljivom za vrednosti koeficijenta $0.7 \leq \alpha < 0.8$, dobrom za vrednosti $0.8 \leq \alpha < 0.9$, a odličnom za $0.9 \leq \alpha$. Takođe, s ciljem ispitivanja uticaja pojedinačnih pitanja na internu konzistenciju upitnika, izračunata je vrednost Cronbach's α koeficijenta u slučaju eliminisanja svakog od pitanja ⁽²⁴⁹⁾.

Za utvrđivanje faktorske strukture dela upitnika kojim se ispituju stavovi, primenjen je višestepeni proces koji je podrazumevao sledeće faze: ispitivanje prikladnosti podataka za faktorsku analizu; ekstrakcija faktora; utvrđivanje broja faktora; rotacija faktora; interpretacija faktorske matrice i nominacija faktora; ispitivanje pouzdanosti instrumenta.

Faktorska analiza (eng. *Factor analysis*) predstavlja multivarijantni statistički pristup za analizu strukture međusobnih odnosa većeg broja manifestnih (originalno opaženih) varijabli definisanjem seta zajedničkih skrivenih (latentnih) dimenzija, tj. faktora. Cilj ovog pristupa je objašnjavanje međusobne povezanosti većeg broja varijabli nekim

manjim brojem latentnih varijabli, odnosno izvora kovarijacije ⁽²⁵⁰⁾. Postupkom faktorske analize sažimaju se informacije sadržane u velikom broju originalnih promenljivih i time definišu fundamentalni konstrukti tj. latentne dimenzije za koje se prepostavlja da su sadržane u manifestnim varijablama. Ovaj statistički metod predstavlja svojevrsnu empirijsku podršku rešavanju konceptualnih pitanja osnovne strukture podataka, pružajući uvid u to koje varijable predstavljaju celinu koja ostvaruje zajednički efekat, i za koliko se varijabli može očekivati uticaj na analitičke ishode.

S ciljem ispitivanja opravdanosti faktorske analize primenjen je Bartlett-ov test sfericiteta i utvrđen je Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pokazatelj adekvatnosti uzorka. Analiza se smatra opravdanom u slučaju da je Bartlett-ov test značajan ($p < 0.05$), jer tada postoji potvrda postojanja korelacija bar među nekim varijablama. Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pokazatelj adekvatnosti uzorka ima vrednosti od 0 do 1 i predstavlja meru za kvantifikovanje interkorelacije među varijablama. Vrednost KMO raste sa porastom veličine uzorka, porastom prosečnih korelacija, porastom broja varijabli i smanjenjem broja faktora. Vrednosti KMO preko 0.8 označavaju vrlo jaku korelaciju; vrednosti 0.7-0.8 jaku korelaciju; vrednosti 0.6-0.7 srednje jaku korelaciju; vrednosti 0.5-0.6 slabu korelaciju, dok vrednosti ispod 0.5 upućuju na neadekvatnost sprovođenja faktorske analize. U ovom istraživanju, kao minimalno prihvatljiva definisana je vrednost KMO od 0.6.

Za izdvajanje faktora u okviru eksplorativne faktorske analize primenjena je analiza glavnih komponenti (eng. *Principal Component Analysis – PCA*). Cilj ove analize je, prevashodno, redukcija obima podataka, tako da se identifikuje minimalan broj faktora koji ima maksimalni udeo u ukupnoj varijansi originalnih (manifestnih) varijabli. Kod ovog pristupa se pri ekstrakciji faktora u obzir uzima ukupna varijansa, pa se na dijagonali korelacione matrice nalaze jedinične vrednosti.

Za utvrđivanje broja faktora primenjena su dva pristupa: Kaiser-Guttman kriterijum (kriterijum jediničnog/latentnog korena) i analiza Dijagrama prevoja latentnih vrednosti (Scree plot) uz primenu Cattell-ovog kriterijuma. Kaiser-Guttman kriterijum podrazumeva da se ekstrahuju faktori čije su svojstvene vrednosti (latentne vrednosti/jedinični koreni)

preko 1. Obrazloženje ovog kriterijuma utemeljeno je na ideji da bilo koji individualni faktor treba da objasni varijansu bar jedne varijable, da bi se smatralo adekvatnim zadržati ga za interpretaciju. Svaka varijabla ima doprinos 1 ukupnoj karakterističnoj vrednosti. Stoga, samo se oni faktori koji imaju latentne korene ili karakteristične vrednosti veće od 1, smatraju značajnim, dok su ostali neznačajni i zato se izostavljaju. Scree plot – dijagram prevoja se konstruiše nanošenjem izdvojenih faktora na apscisu i njima pripadajućih karakterističnih vrednosti na ordinatu i ima za cilj identifikaciju optimalnog broja faktora koji se mogu ekstrahovati pre no što obim jedinstvene varijanse počne da dominira strukturom zajedničke varijanse. Pažljivim pregledom oblika rezultirajuće krive utvrđuje se tačka prekida tj. prevoj ili granična vrednost koja indikuje odgovarajući broj faktora za ekstrakciju.

U okviru rotiranja faktorske matrice primenjena je kosougla Oblimin rotacija. Cilj rotiranja je redistribucija varijanse sa ranijih faktora na kasnije faktore, da bi se ostvarila jednostavnija, teoretski značajnija i interpretativno prihvatljivija faktorska šema. Faktorska opterećenja predstavljaju korelaciju između svake varijable i faktora. Ove vrednosti su mera su korespondentnosti varijable i faktora i veće vrednosti ukazuju da je varijabla bolji reprezent faktora. Željeni konačni ishod rotacije je dobijanje tzv. jednostavne strukture u kojoj se registruje jedno visoko faktorsko opterećenje za svaku varijablu na samo jednom faktoru.

Konačno, za proveru pouzdanosti skale u celini i na nivou izdvojenih faktora korišćena je mera interne konzistencije izražena Cronbach's α koeficijentom (α_{cronbach}). Kao prihvatljive su označene vrednosti α_{cronbach} iznad 0,7, vrednosti preko 0,8 označavaju dobru konzistentnost, a preko 0,9 odličnu konzistentnost upitnika.

U svim primenjenim analizama, nivo statističke značajnosti p, tumačen je statistički značajnim za vrednosti $p < 0,05$.

3.3 Treća studija: Uticaj intervencije edukativnog tipa na znanja, stavove i praksu farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Sprovedena studija predstavlja studiju intervencije uz primenu eksperimentalnog pretest-posttest dizajna sa kontrolnom grupom (eng. *experimental study pretest-posttest design with a control group*).

3.3.1 Ispitanici

Ispitanici koji su uključeni u ovu studiju su diplomirani farmaceuti/magistri farmacije i farmaceutski tehničari sa licencom (odobrenjem za samostalni rad, izdatom od strane nadležne komore tj. Farmaceutske komore Srbije i Komore medicinskih sestara i zdravstvenih tehničara Srbije) zaposleni u apotekama na primarnom nivou zdravstvene zaštite u Republici Srbiji. Pri regrutaciji ispitanika uključene su apoteke iz Uredbe o planu mreže zdravstvenih ustanova ⁽²⁴⁶⁾, kao i odgovarajući broj privatnih apoteka koje imaju ⁽²⁴⁷⁾ i koje nemaju sklopljen ugovor sa Republičkim fondom za zdravstveno osiguranje.

Jedini kriterijum za uključivanje bio je dobrovoljnost, a kriterijum za isključivanje učešće u prethodno opisanoj studiji preseka za procenu znanja, stavova i prakse u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata. S ciljem regrutacije ispitanika, putem zvaničnog sajta Farmaceutske Komore Srbije i Centra izuzetne vrednosti za istraživanja u oblasti ishrane i metabolizma ponuđen je edukativni program čiji je cilj bio unapređenje: znanja o relevantnim preporukama o unosu folata, sposobnosti kritičke procene dostupnih informacija iz različitih literaturnih izvora i baza, veštine prepoznavanja ciljne populacije i tehnika savetovanja, kao i motivisanosti da se u svakodnevnoj radnoj praksi insistira na doslednoj primeni stečenih znanja i veština.

Svi ispitanici su po principu randomizacije podeljeni u eksperimentalnu i kontrolnu grupu (komparabilne strukture kada je reč o broju farmaceuta i farmaceutskih tehničara, kao i broju učesnika iz geografskih regija koje odgovaraju ograncima nadležnih Komora).

3.3.2 Plan studije

Ispitanici eksperimentalne i kontrolne grupe su popunjavali upitnik kreiran sa ciljem procene znanja, stavova i prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara o savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata, čiji su razvoj i sadržaj detaljno opisani u poglavlju 3.2.3. Nakon toga, ispitanici iz test grupe su podvrgnuti intervenciji koju predstavlja namenski kreiran edukativni program o folatima.

U razvoju plana i sadržaja edukativnog programa, kao i primenjenih didaktičkih sredstava učestvovao je panel eksperata iz oblasti istraživanja farmaceutske prakse i istraživanja ishrane.

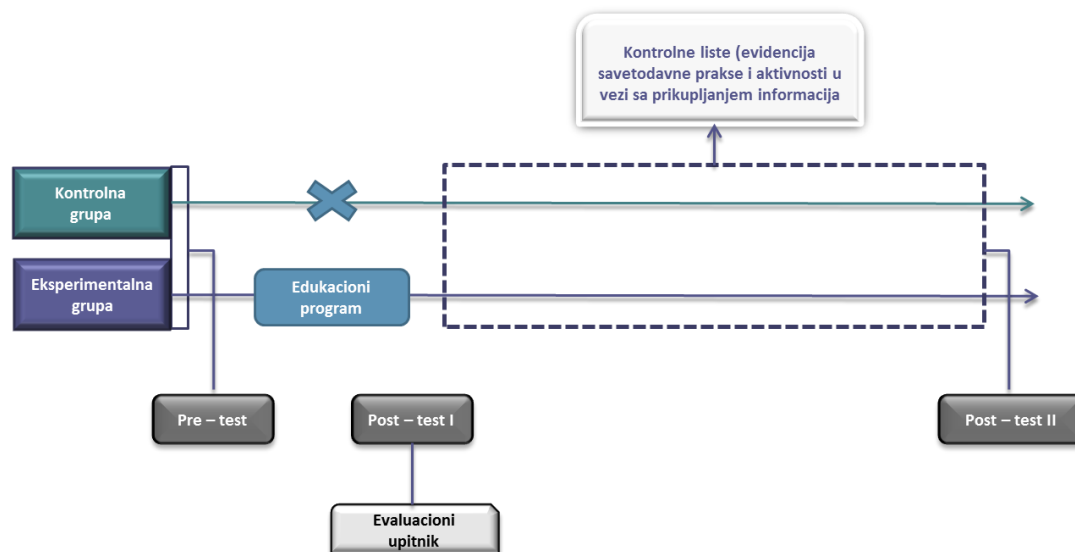
Kursevi su organizovani u četiri centra, tako da su obuhvaćena sva četiri ogranka Farmaceutske Komore Srbije (Beograd, Vojvodina, Kragujevac i Niš sa Kosovom i Metohijom) primenom jednakog plana, sadržaja i strukture kursa, uz identična didaktička sredstva i uz učešće istih predavača. Po završetku kursa ispitanici su zamoljeni da ponovo ispune upitnik kako bi se analizom dobijenih rezultata utvrdila kratkoročna uspešnost edukativne intervencije (pretest-posttest dizajn). Dodatno, polaznici kursa su ispunjavali i kratak evaluacioni upitnik čiji je cilj bila procena zadovoljstva organizacijom, sadržajem i programom kursa, kao i percepcije učesnika o njegovoj korisnosti. S ciljem longitudinalnog praćenja usvojenog znanja, promena u stavovima i praksi (tzv. *follow-up*) isti upitnik su ispitanici iz obe navedene grupe (eksperimentalne i kontrolne) popunjavali i nakon mesec dana.

Svi ispitanici su u posebno kreiranim kontrolnim listama tokom perioda od mesec dana evidentirali svoje aktivnosti u vezi sa: savetovanjem žena reproduktivne dobi o

folatima (učestalost i obim pružanja informacija, zainteresovanost pacijentkinja, eventualni problemi i specifična zapažanja) i pristupu informacijama iz ove oblasti (izvori, obim i vrsta, način pristupa).

Učešće u ovoj studiji bilo je zasnovano na principu dobrovoljnosti i ispitanicima nije nuđena nikakva materijalna nadoknada za učešće. Popunjavanje upitnika podrazumevalo je potpunu zaštitu identiteta ispitanika. Svim učesnicima studije dodeljen je jedinstveni identifikacioni kod, kojim su jednoznačno povezani svi pripadajući upitnici. Od ispitanika je dobijena pisana informisana saglasnost za učešće u istraživanju.

Po završetku studije, farmaceutima i farmaceutskim tehničarima iz kontrolne grupe ponuđen je edukativni program, koji su prethodno pohađali ispitanici eksperimentalne grupe. Šematski prikaz plana studije dat je na Slici 8.



Slika 8. Šematski prikaz toka intervencijske studije (pretest-posttest eksperimentalni dizajn sa kontrolnom grupom)

3.3.3 Teorijski okvir

Teorijski okvir na kome je zasnovana edukativna intervencija je Model zdravstvenih uverenja (eng. *Theoretical framework Health belief model*) ^(251–254). Pomenuti model objašnjava i previđa ponašanje u vezi sa zdravljem, fokusirajući se na individualne stavove i uverenja. Ključni elementi ovog modela su: percepirana pretnja (koja obuhvata percepciju podložnosti i percepciju ozbiljnosti), percepirana korist strategije usmerene na redukciju pretnje od negativnih zdravstvenih ishoda, percepirane barijere (fizičke, psihološke, finansijske...) koje otežavaju i/ili onemogućavaju preduzimanje određenih aktivnosti u vezi sa održavanjem/poboljšavanjem zdravlja i tzv. podsticaji na akciju tj. događaji (bilo sopstveni-telesni ili iz okruženja) koji predstavljaju „okidače” motivacije.

Svi navedeni činioci konceptualnog okvira mogu se razmatrati i u kontekstu perikonceptijske suplementacije folnom kiselinom. Naime, sve seksualno aktivne žene reproduktivne dobi izložene su teorijskom riziku od nastanka defekata nervne cevi ploda u slučaju začeca. Ozbiljnost posledica je izuzetna, budući da ova stanja prati visok nivo morbiditeta, mortaliteta, društvenih troškova i ljudske patnje. Ipak, u većini slučajeva, reč je o preventabilnoj patologiji. Naime, perikonceptijska suplementacija folnom kiselinom predstavlja vrlo efikasnu, široko dostupnu i konformnu preventivnu strategiju. Istraživanja su prepoznala ograničenu informisanost i nizak nivo svesti kod žena reproduktivne dobi o značaju folne kiseline u kontekstu planiranja zdravog potomstva kao jednu od ključnih barijera u realizaciji punog potencijala ove javnozdravstvene intervencije. Dodatno, saveti i informacije od zdravstvenih profesionalaca često izostaju kao podsticaji za usvajanje preporuka i primenu odgovarajućih mera.

Na osnovu svega izloženog ciljevi edukacione intervencije bili su:

- Unapređenje znanje farmaceuta i farmaceutskih tehničara o važnosti folata u prekonceptijskoj nezi i osnaživanje njihovih profesionalnih kapaciteta da pripadnicama ciljne populacije pružaju efikasne, naučno zasnovne i ubedljive zdravstveno-promotivne poruke u vezi sa ovom temom

- Stimulisanje članova farmaceutskog tima da savete i informacije formulišu vodeći se opisanim teorijskim okvirom, tako da prevashodno treba da utiču na razvijanje svesti o ozbiljnosti defekata nervne cevi, subjektivnu percepciju rizika od nastanka takvih negativnih zdravstvenih ishoda i da informišu žene o zdravstvenim benefitima pravilne suplementacije pomenutim nutrijentom; Takođe, sa ženama reproduktivne dobi treba da prodiskutuju eventualne prepreke koje ometaju implementaciju preporuka i razmotre moguća rešenja
- Motivisanje polaznika da navedene aktivnosti redovno primenjuju u okviru svakodnevne radne prakse u javnim apotekama uz dosledan i proaktivan pristup u zdravstvenom prosvetivanju

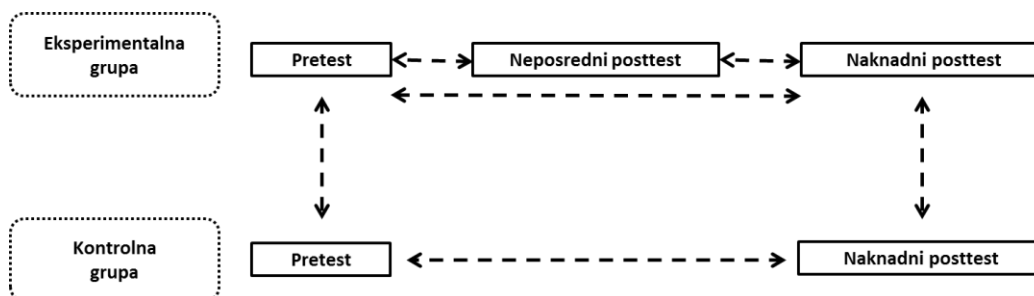
3.3.4 Statistička analiza podataka intervencijske studije

Desriptivna i inferencijalna statistička analiza rezultata eksperimentalne studije sprovedena je primenom Statističkog paketa za društvene nauke - *Statistical Package for Social Science (SPSS)* (verzija 22, SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

S ciljem ispitivanja komparabilnosti strukture kontrolne i eksperimentalne grupe u odnosu na sociodemografske karakteristike i parametre profesionalnog profila učesnika, primenjeni su χ^2 tj. Chi-kvadrat test nezavisnosti i t-test nezavisnih uzoraka. Chi-kvadrat test je primenjen na karakteristikama operacionalizovanim kroz kategoričke varijable (pol, bračni status, roditeljski status, najviši nivo formalnog obrazovanja, profesionalni status), dok je t-test za nezavisne uzorke korišćen za ispitivanje razlika između varijabli koje su operacionalizovane kao kontinuirane (starost, dužina radnog staža, broj dece u porodici).

Da bi se ispitalo da li je u okviru eksperimentalne grupe došlo do statistički značajne promene ukupnog skora na testu znanja između pretesta i evaluacije nakon edukacije, kao i između posttesta 1 (neposredno posle edukacije) i posttesta 2 (nakon mesec dana) primenjen je t-test uparenih uzoraka. Ista statistička analiza je primenjena i u ispitivanju

razlika između pretesta i posttesta u kontrolnoj grupi. T-test nezavisnih uzoraka je primenjen za ispitivanje razlike u promeni postignuća na testu znanja između farmaceuta i farmaceutskih tehničara u okviru eksperimentalne grupe.



Skor napretka (eng. *Gain score*)⁽²⁵⁵⁾ je izračunat za neposredni posttest (D_{10eks}) i naknadni posttest u odnosu na posttest 1 i početnu tačku studije u eksperimentalnoj grupi (D_{21eks} i D_{20eks} , redom), odnosno za naknadni posttest u kontrolnoj grupi (D_{20kont}):

$$D_{10eks} = Y_{1eks} - Y_{0eks}; D_{21eks} = Y_{2eks} - Y_{1eks}; D_{20eks} = Y_{2eks} - Y_{0eks}; D_{20kont} = Y_{2kont} - Y_{0kont};$$

Y_{0eks} - skor na testu znanja eksperimentalne grupe u inicijalnoj tački studije

Y_{1eks} - skor na testu znanja eksperimentalne grupe neposredno nakon edukacije (neposredni posttest/posttest 1)

Y_{2eks} - skor na testu znanja eksperimentalne grupe na naknadnom posttestu (posttest 2)

Y_{0kont} - skor na testu znanja kontrolne grupe u inicijalnoj tački studije

Y_{2kont} - skor na testu znanja kontrolne grupe na naknadnom posttestu

Veličina efekta edukacione intervencije (eng. *effect size*) izražena je kao Koenova d mera veličine efekta (*Cohen's d*), pri čemu je u kalkulaciji primenjena specifična formula za pretest-posttest eksperimentalni dizajn sa kontrolnom grupom koju su predložili Carlson i Schmidt⁽²⁵⁶⁾, a podržao Morris⁽²⁵⁷⁾.

$$d_{ppk} = c_p \left[\frac{(M_{posteks} - M_{preeks}) - (M_{postkont} - M_{prekont})}{SD_{pre}} \right]$$

$$SD_{pre} = \sqrt{\frac{(n_{eks} - 1) SD_{preeks}^2 + (n_{kont} - 1) SD_{prekont}^2}{n_{eks} + n_{kont} - 2}}, c_p = 1 - \frac{3}{4(n_{eks} + n_{kont} - 2) - 1}$$

d_{ppk} - Koenova d mera veličine efekta u studijama pretest-posttest eksperimentalnog dizajna sa kontrolnom grupom

M_{preeks} - srednja vrednost skora znanja na pretestu u okviru eksperimentalne grupe
 $M_{posteks}$ - srednja vrednost skora znanja na naknadnom posttestu u okviru eksperimentalne grupe
 $M_{prekont}$ - srednja vrednost skora znanja na pretestu u okviru kontrolne grupe
 $M_{postkont}$ - srednja vrednost skora znanja na naknadnom posttestu u okviru kontrolne grupe
 n_{eks} - broj ispitanika u okviru eksperimentalne grupe
 n_{kont} - broj ispitanika u okviru kontrolne grupe
 SD_{pre} - standardna devijacija skora znanja na nivou pretesta (pulovana vrednost za eksperimentalnu i kontrolnu grupu)
 SD_{preeks} - standardna devijacija skora znanja na nivou pretesta u eksperimentalnoj grupi
 $SD_{prekont}$ - standardna devijacija skora znanja na nivou pretesta u kontrolnoj grupi
 C_p - korektivni faktor

Veličina efekta na nivou izdvojene eksperimentalne grupe izražena je na osnovu formule za Koenovu d vrednost za dizajn ponovljenih merenja, koji uzima u obzir korelacioni koeficijent između rezultata analiziranih parova, i to na relaciji pretest – neposredni posttest i pretest – naknadni posttest ^(258,259).

$$d = t_c [2(1 - r)/n]^{1/2}$$

d - Koenova d mera veličine efekta za pretest-posttest dizajn jedne grupe
 t_c - t vrednost za korelisane observacije
 r - korelacioni koeficijent
 n - broj ispitanika

Pri interpretaciji Koenove d mere veličine efekta, korišćene su vrednosti iznete u tzv. Koenovoj konvenciji prema kojoj d vrednost u opsegu 0.2-0.4 upućuje na mali efekat, vrednost od 0.4 do 0.7 na srednji (umereni) efekat i sve vrednosti preko 0.8 na veliki efekat ⁽²⁶⁰⁾.

Dodatno je, za sveobuhvatnu procenu uticaja edukacione intervencije na znanje ispitanika iz eksperimentalne grupe sprovedena jednofaktorska Analiza varijanse ponovljenih merenja. Izračunata je Wilks' Lambda vrednost kao količnik zbira kvadrata odstupanja rezultata od srednje vrednosti unutar grupa i ukupnog zbira odstupanja, a za procenu veličine uticaja korišćena je vrednost parcijalnog eta kvadrata. Prema smernicama

koje je dao Cohen vrednosti 0.01-0.06 upućuju na mali uticaj, vrednosti 0.06-0.14 na umeren uticaj, a vrednosti preko 0.14 na veliki uticaj.

Za ispitivanje razlika u postignuću na testu znanja između eksperimentalne i kontrolne grupe na nivou završne tačke studije uz statističko uklanjanje tj. kontrolu uticaja rezultata na pretestu primenjena je jednofaktorska Analiza kovarijanse tj. ANCOVA. Ova statistička metoda predstavlja proširenje Analize varijanse, a cilj joj je otklanjanje efekta pridružene varijable (kovarijata) kao izvora mogućeg objašnjenja razlike tretmana. Kao metod za kontrolu inicijalnih razlika varijabli u istraživanju sa heterogenim eksperimentalnim jedinicama, ova tehnika omogućava bolju eksperimentalnu kontrolu uz redukciju slučajne varijanse. Izvršene su neophodne preliminarnе analize za proveru ispunjenosti bazičnih pretpostavki na kojima je utemeljena ANCOVA: normalnost, linearnost, homogenost varijansi, homogenost regresionih nagiba i pouzdanost merenja kovarijata. Homoskedasticitet je ispitan Levenovim testom i utvrđena je značajnost što upućuje na narušavanje pretpostavke o homogenosti varijansi ($p < 0.01$). Ipak, poznato je da to ne mora nužno da utiče na validnost rezultata analize kovarijanse tj. da robusnost metode može da prevaziđe manju heterogenost varijansi. Zato, Field predlaže izrčunavanje tzv. količnika varijansi (eng. *variance ratio*) kao dodatnu proveru ujednačenosti varijansi i, ukoliko su vrednosti ispod 2 sugerišе se nastavak procedure ⁽²⁶¹⁾. Analizom je dobijena vrednost 1.65 (< 2), pa je, u skladu sa tim, nastavljen rad u okviru analize kovarijanse. Cronbach α vrednost, kao mera interne konzistencije instrumenta za procenu znanja, je korišćena za potvrdu pouzdanosti kovarijata ($\alpha_{kov} = 0.829$).

Za ispitivanje stavova ispitanika utvrđen je stepen slaganja sa iskazima iz upitnika na osnovu Likertove skale sa 5 nivoa. S ciljem utvrđivanja eventualnih promena u stavovima između pretesta i posttesta 1, kao i između posttesta 1 i posttesta 2 u okviru eksperimentalne grupe; odnosno pretesta i posttesta kod ispitanika iz kontrolne grupe primenjen je t-test uparenih uzoraka. Komparativna analiza stavova ispitanika iz eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj i završnoj tački studije sprovedena je primenom t-testa za nezavisne uzorke. Pre pomenutih analiza izvršena je tzv. linearizacija

podataka tj. kalkulacija ukupnog skora na nivou svakog pojedinačnog stava, primenom sledeće formule ⁽²⁶²⁾:

$$\text{Skor stava na nivou tvrdnje} = \frac{\text{Zbir svih ocena stepena slaganja za tvrdnju}}{\text{Broj ispitanika koji su dali ocenu}}$$

Za ispitivanje razlika u distribuciji ispitanika iz eksperimentalne i kontrolne grupe na osnovu učestalosti pružanja informacija i saveta o adekvatnom unosu i statusu folata primenjen je Chi kvadrat test nezavisnosti i to za podatke generisane u početnoj i završnoj tački studije. Za ispitivanje promena u savetodavnoj praksi farmaceuta i farmaceutskih tehničara u funkciji vremena, za svaku od grupa zasebno, primenjen je Chi kvadrat test jednog uzorka, pri čemu su frekvencije iz podataka naknadnog posttesta postavljene kao opažene, a učestalosti iz pretesta kao očekivane. Broj pacijentkinja kojima su ispitanici tokom perioda od mesec dana, na osnovu ispunjenih kontrolnih lista, pružali relevantne informacije i savete uzet je kao kvantitativni indikator aktivnosti u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o folatima. T-test nezavisnih uzoraka je upotrebljen za poređenje ovog parametra između eksperimentalne i kontrolne grupe a Analiza varijanse ponovljenih merenja za evaluaciju promena u okviru grupa u funkciji vremena.

3.4 Etička odobrenja za sprovođenje istraživanja

Na zahtev kandidata, a nakon uvida u priloženu dokumentaciju, saglasnost za sprovođenje svih faza naučnistraživačkog rada u okviru izrade doktorske disertacije dali su Etički komitet Instituta za medicinska istraživanja (br. EO112/2015) i Etički komitet za biomedicinska istraživanja Farmaceutskog fakulteta u Beogradu (br. 261/2 i br. 656/2).

Studije su sprovedene u skladu sa postulatima Helsinške deklaracije i standardima Svetske zdravstvene Organizacije za istraživanja koja se sprovode na ljudima ⁽²⁶³⁾.

4 REZULTATI

4.1 Rezultati validacione studije

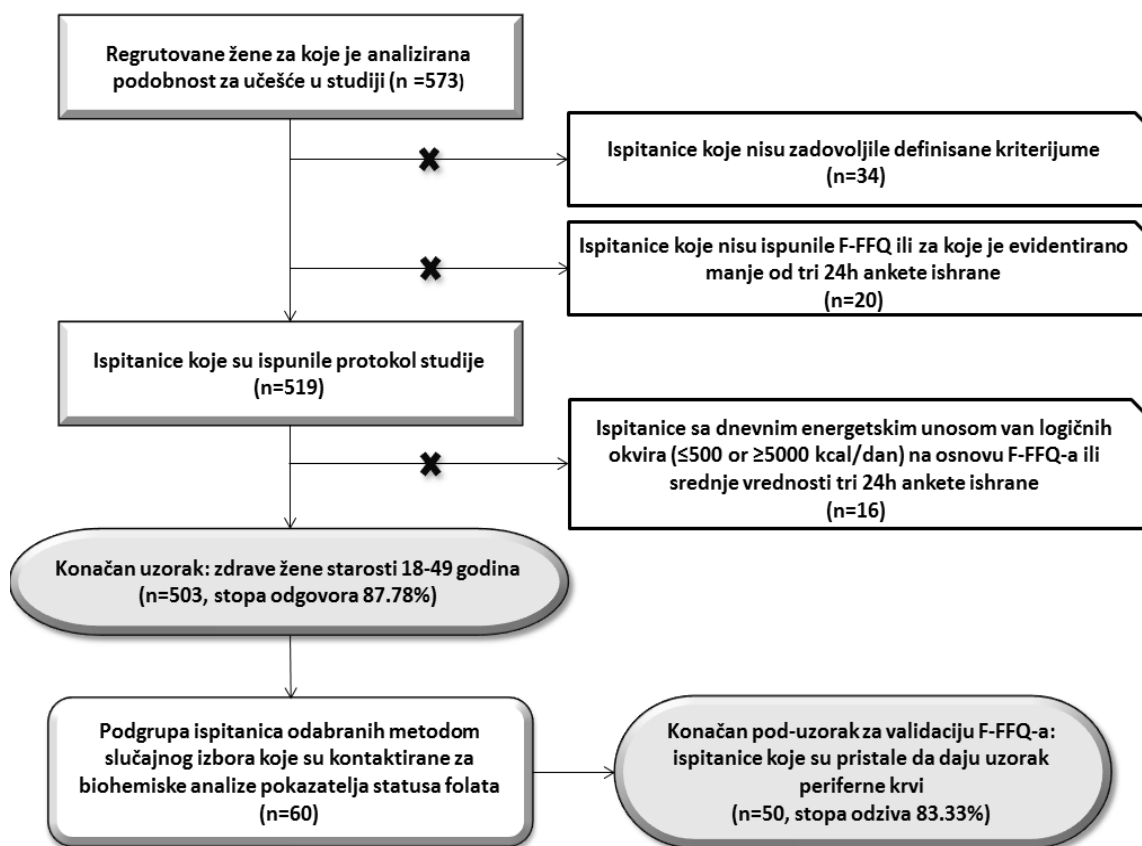
4.1.1 Karakteristike ispitanica i struktura uzorka

Tokom perioda od godinu dana regrutovano je 573 žena i za njih je ispitana podobnost za učešće u studiji u odnosu na unapred definisane kriterijume za uključivanje i isključivanje. Iz procedure su izuzete one koje nisu zadovoljile navedene uslove, kao i one kod kojih je izostalo popunjavanje svih upitnika predviđenih planom studije (tri dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane i Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji – F-FFQ).

Od ispitanica koje su u potpunosti ispunile protokol studije, iz analize su izuzete one kod kojih je na osnovu evaluacije prosečne vrednosti tri 24h ankete ishrane i/ili F-FFQ-a utvrđen energetska unos izvan logično prihvatljivog opsega, što je rezultovalo konačnim brojem od 503 ispitanice. Metodom slučajnog izbora odabrano je 60 žena, kojima je ponuđeno uzorkovanje venske periferne krvi i analiza biomarkera statusa folata i 50 je, po principu dobrovoljnosti, pristalo da obezbedi uzorak biološkog materijala. Šematski prikaz toka regrutacije i stope odgovora i odziva predstavljene su na Slici 9.

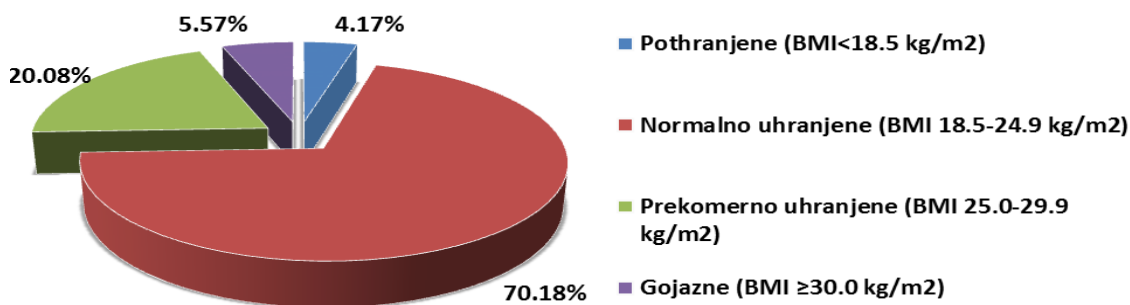
Prosečna starost ispitanica bila je 34.09 ± 10.74 godine. Podeljene u starosne kategorije, 88 žena imalo je između 18 i 25 godina, 179 između 25 i 35 godina, 159 između 35 i 45 godina, a preostalih 78 između 45 i 49 godina. Ukupni uzorak i validaciona podgrupa nisu bili statistički različiti po sledećim parametrima:

- Telesna masa: 65.09 ± 8.15 kg vs. 62.24 ± 6.06 kg,
- Telesna visina: 168.89 ± 5.21 cm vs. 169.94 ± 4.42 cm,
- Indeks telesne težine (eng. *Body Mass Index – BMI*): 22.83 ± 2.64 kg/m² vs. 21.99 ± 1.93 kg/m²
- Odnos obima struka i kukova (eng. *Waist to Hip Ratio – WHR*): 0.77 ± 0.06 vs. 0.76 ± 0.04



Slika 9. Šematski prikaz procesa regrutacije, stope odgovora i odziva ispitanica u studiji procene validnosti F-FFQ-a

Struktura uzorka na osnovu antropometrijskih merenja, a prema klasifikaciji zasnovanoj na indeksu telesne težine data je na Slici 10.



Slika 10. Struktura uzorka: Klasifikacija ispitanica prema indeksu telesne težine

U trenutku sprovođenja istraživanja, 2.58% ispitanica imalo je samo osnovno obrazovanje, 58.65% srednje, a 38.77% više ili visoko obrazovanje. Redovnu primenu (najmanje jednom nedeljno) dijetetskih suplemenata folne kiseline (u formi monokomponentnih ili kompozitnih vitaminskih/vitaminsko-mineralnih preparata), prijavilo je 4.77% ispitanih žena. U ukupnom uzorku bilo je 29.22% pušača, a u validacionoj podgrupi 26.04%. Na osnovu podataka iz F-FFQ-a, od 503 žene koje su učestvovalе u studiji 41.75% konzumiralo je alkohol na nedeljnom nivou, a 89.66% kafu odnosno 63.61% čaj barem šolju dnevno. Prema sopstvenom iskazu, umerenu fizičku aktivnost u trajanju od 30 min do 3.5 h na nedeljnom nivou, upražnjavalo je 76.34% ispitanica iz glavnog uzorka, odnosno 77.73% iz validacione podgrupe.

4.1.2 Procena dijetarnog unosa, dominantni izvori folata i analiza biomarkera statusa folata

Procenjeni dnevni unos energije, makronutrijenata i folata predstavljen je, uz korelacione koeficijente među vrednostima generisanim putem 24h anketa ishrane i F-FFQ-a, u Tabeli 6. Pearson-ovi koeficijenti korelacije između procena unosa folata zasnovanih na F-FFQ-u i 24h anketama ishrane nisu bili značajno izmenjeni nakon što je izvršeno prilagođavanje/korigovanje za energetske unos (eng. *energy-adjustment*) primenom rezidualnog modela ni na nivou ukupnog uzorka (sirovi podaci: $r=0.56$, p -vrednost <0.001 vs. energetske-prilagođeni podaci: $r=0.53$, p -vrednost <0.001), ni za validacioni poduzorak (sirovi podaci: $r=0.57$, p -vrednost <0.001 vs. energetske-prilagođeni podaci $r=0.59$, p -vrednost <0.001). Takođe, nije bilo statistički značajnih razlika u procenjenom dijetarnom unosu između kompletnog uzorka i validacione podgrupe ($p>0.05$).

Kod samo 6.16% odnosno 6.76% ispitanica registrovan je unos folata preko granice procenjenih prosečnih potreba (EAR –Estimated Average Requirements; 320 μ g DFE/dan), dok je čak 96.22% odnosno 93.64% imalo unos ispod preporučenih 400 μ g DFE/dan (RNI – Recommended Nutrient Intake), na osnovu ponovljenih 24h anketa ishrane i F-FFQ-a, redom.

Tabela 6. Procenjeni dnevni unos energije, makronutrijenata i folata, na osnovu F-FFQ-a i srednje vrednosti tri 24h ankete ishrane uz korelacione koeficijente između vrednosti procenjenih primenom navedenih metoda

Nutrijent	Kompletan uzorak (<i>n</i> = 503)				Pearson Koeficijent korelacije	Validaciona podgrupa (<i>n</i> = 50)				Pearson Koeficijent korelacije
	F-FFQ		24 hRecalls			F-FFQ		24 hRecalls		
	\bar{x}	SD	Mean	SD	<i>r</i>	\bar{x}	SD	Mean	SD	<i>r</i>
Energija (kcal)	1724.62	330.02	1734.20	318.50	0.53 **	1727.29	200.36	1718.93	219.40	0.59 **
Ugljeni hidrati (% TEI)	52.23	9.21	50.94	7.23		51.02	5.51	49.88	6.08	
Ugljeni hidrati (g)	225.19	42.72	220.85	59.78	0.51 *	220.31	23.58	214.35	28.21	0.52 **
Masti (% TEI)	27.81	10.61	28.30	7.21		29.34	6.74	31.41	6.30	
Masti (g)	53.29	23.90	54.53	23.72	0.41 **	56.31	14.90	59.99	14.85	0.47 *
Proteini (% TEI)	19.52	2.93	20.22	3.50		19.20	2.05	18.49	2.62	
Proteini (g)	84.16	13.87	87.66	17.51	0.39 **	82.91	7.38	79.46	8.92	0.40 *
Folati (µg/1000 kcal)	118.98	35.44	121.66	42.73	0.53 **	123.95	32.27	119.90	35.76	0.53 **
Folati (µg)	205.20	61.30	211.00	81.06	0.56 **	214.10	60.78	206.10	65.31	0.57 **

F-FFQ, Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji; % UE, procenat ukupnog energetskog unosa; *p-vrednost<0.01, **p-vrednost<0.00

U Tabeli 7 dat je prikaz medijane, 5-og i 95-og percentila dnevnog masenog unosa dvanaest grupa namirnica na osnovu sprovedenih 24h anketa ishrane, kao i unos folata ostvaren konzumacijom tih grupa namirnica. Relativni doprinos navedenih grupa namirnica predstavljen je Slikom 11. Kao dominantni izdvojili su se povrće i proizvodi od povrća, žitarice i proizvodi od žitarica i voće i proizvodi od voća sa 37.35%, 23.39% i 11.52% doprinosa dnevnom unosu folata, redom. Glavni izvori folata za ispitivanu kohortu, identifikovani primenom obe vrste dijetarnih upitnika predstavljeni su u Tabeli 8.

Tabela 7. Medijane, 5. i 95. percentili dnevnog unosa dvanaest grupa namirnica i njihov doprinos dnevnom unosu folata zasnovan na ponovljenim 24h anketama ishrane

Grupe namirnica	Konzumirana količina (g/dan)			Doprinos unosu folata
	Medijana	P5	P95	Unos folata (µg/dan)
Povrće i proizvodi od povrća	175.07	63.95	318.20	79.66
Žitarice i proizvodi od žitarica	195.91	90.68	338.82	49.89
Voće i proizvodi od voća	130.75	9.31	378.17	24.57
Mleko i mlečni proizvodi	241.69	15.68	481.12	22.35
Meso i mesne preradevine	95.62	12.31	200.87	12.31
Orašasti plodovi i semenke	6.00	0.00	66.00	6.42
Ne-mlečni napici	1.14	0.04	32.59	5.55
Ostali proizvodi	5.87	0.00	78.48	4.91
Jaja i proizvodi od jaja	8.88	0.00	64.10	3.09
Riba i morski plodovi	0.00	0.00	107.45	2.37
Šećer i slatkiši	17.55	0.75	64.97	2.09
Masti i ulja	11.69	0.00	32.62	0.09

P5 – 5.percentil, P95-95.percent

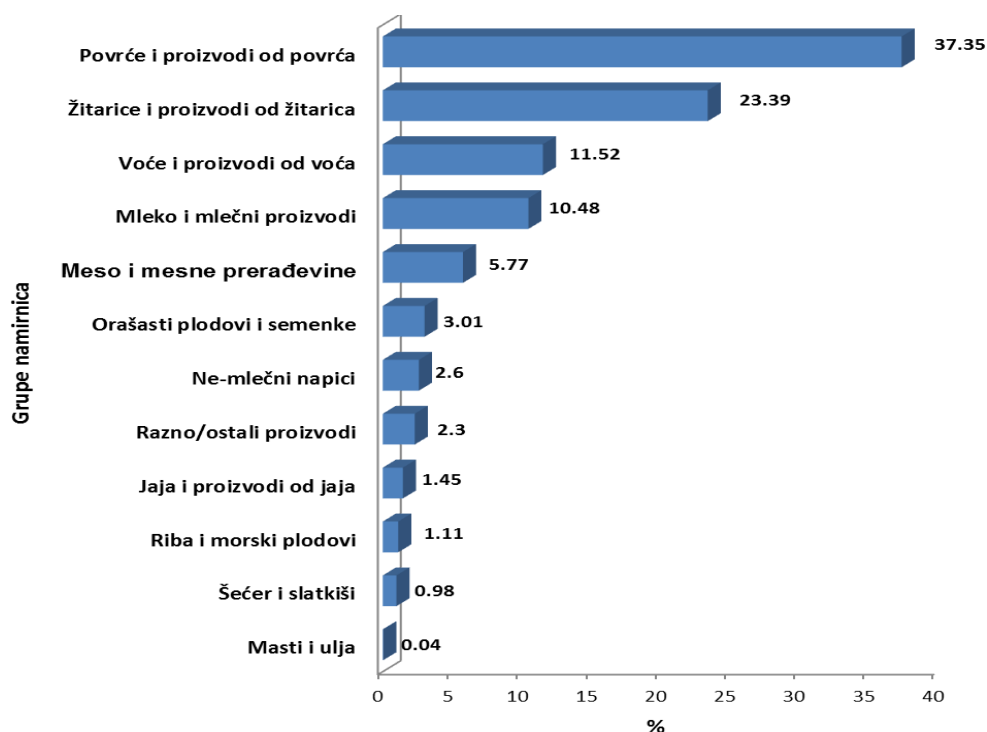
Tabela 8. Glavni dijetarni izvori folata za analiziranu kohortu žena reproduktivne dobi (n=503) na osnovu 24h anketa ishrane i F-FFQ-a

Namirnica	24 h ankete ishrane (n= 503)		F-FFQ (n= 503)		
	µg DFE/dan Kompletan uzorak	µg DFE/dan Samo konzumenti	Broj konzumenata	% konzumenata	Prosečna učestalost konzumiranja
Hleb, beli	15.67	30.11	328	65.21	Svakodnevno
Pasulj	10.08	218.38	434	86.28	2–3 puta mesečno
Paradajz, svež	9.45	18.75	482	95.83	4–6 puta nedeljno
Jogurt 2.8% mm	7.65	16.05	419	83.30	Jednom nedeljno
Dzigerica, pileća	7.14	251.19	456	90.66	Jednom nedeljno
Grašak	6.11	93.57	422	83.90	2–3 puta mesečno
Banana, sveža	6.06	48.38	492	97.81	2–3 puta nedeljno
Jaje, kokošije	5.78	22.45	487	96.82	2–3 puta nedeljno
Paprika, sveža	5.03	51.07	321	63.82	2–3 puta mesečno
Krompir	4.98	12.91	225	44.73	2–3 puta mesečno
Jagode, sveže	4.84	26.95	419	83.30	Jednom nedeljno
Boranija	4.43	67.11	248	49.30	2–3 puta mesečno
Zelena salata	4.29	17.98	354	70.38	2–3 puta mesečno
Sok pomorandže	3.17	62.16	232	46.12	Jednom nedeljno
Kupus, beli	2.71	12.06	393	78.13	2–3 puta mesečno

DFE-dijetarni ekvivalenti folata; F-FFQ, Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji

Srednja koncentracija folata u serumu ispitivanih žena bila je 12.29 ± 6.59 nmol/L, dok je srednja koncentracija u eritrocitima iznosila 438.66 ± 144.63 nmol/L. Na osnovu graničnih vrednosti od 6.8 nmol/L za koncentraciju folata u serumu, odnosno 340 nmol/L za koncentraciju folata u crvenim krvnim ćelijama, prevalenca utvrđenih biomarkera statusa indikativnih za deficijenciju folata iznosila je 30% (n=15) i 24% (n=12), redom. Odgovarajući status folata zabeležen je kod 38% (n=19) ispitanica. Ni kod jedne žene nije

registrovana koncentracija folata u eritrocitima jednaka ili veća od 906 nmol/l, što je vrednost koja se povezuje sa najmanjim rizikom od nastanka defekata nervne cevi. Utvrđen je statistički značajan trend porasta koncentracije folata u serumu i eritrocitima sa porastom dijetarnog unosa ovog nutrijenta ($p < 0.05$; Tabela 9).



Slika 11. Relativni doprinos (%) dvanaest grupa namirnica dnevnom unosu folata u analiziranoj kohorti (n=503), na osnovu sprovedenih 24h anketa ishrane

Tabela 9. Biomarkeri statusa folata – prikaz prema kvartilima raspodele dijetarnog unosa

Kvartil	Unos folata ($\mu\text{g}/\text{dan}$)	<i>n</i>	Koncentracija folata u serumu (nmol/L)			Koncentracija folata u eritrocitima (nmol/L)		
			\bar{x}	95% CI	<i>p</i> za trend	\bar{x}	95% CI	<i>p</i> za trend
I kvartil	<168.43 (147.31)	13	9.54	5.73–13.35		378.29	304.73–451.84	
II kvartil	168.43–194.12 (182.60)	13	11.48	7.51–15.45		399.05	306.61–491.48	
III kvartil	194.12–245.62 (217.37)	12	12.18	8.78–15.58		447.27	358.51–536.02	
IV kvartil	245.62–362.34 (306.81)	12	15.90	11.51–20.29	0.0139	526.05	444.62–607.48	0.0113

4.1.3 Analiza slaganja procena o dijetarnom unosu zasnovanih na 24h anketama ishrane i F-FFQ-u

U cilju sagledavanja sposobnosti F-FFQ-a da svrsta ispitanice u odgovarajuće kvartile raspodele dijetarnog unosa folata kao 24h ankete ishrane, odnosno raspodele biomarkera statusa folata (koncentracija u serumu i eritrocitima), sprovedena je unakrsna klasifikaciona analiza. Ispitivani instrument je svrstao više od 80% učesnica studije u isti ili susedni kvartil kao 24h ankete ishrane i biohemijski pokazatelji statusa (Tabela 10).

Slika 12 ilustruje korelacije između F-FFQ-a i 24h anketa ishrane kada je reč o procenjenom unosu folata na nivou kompletnog uzorka (n=503) i validacione podgrupe (n=50), dok Slika 13 ilustruje korelaciju između F-FFQ-a i biomarkera statusa folata.

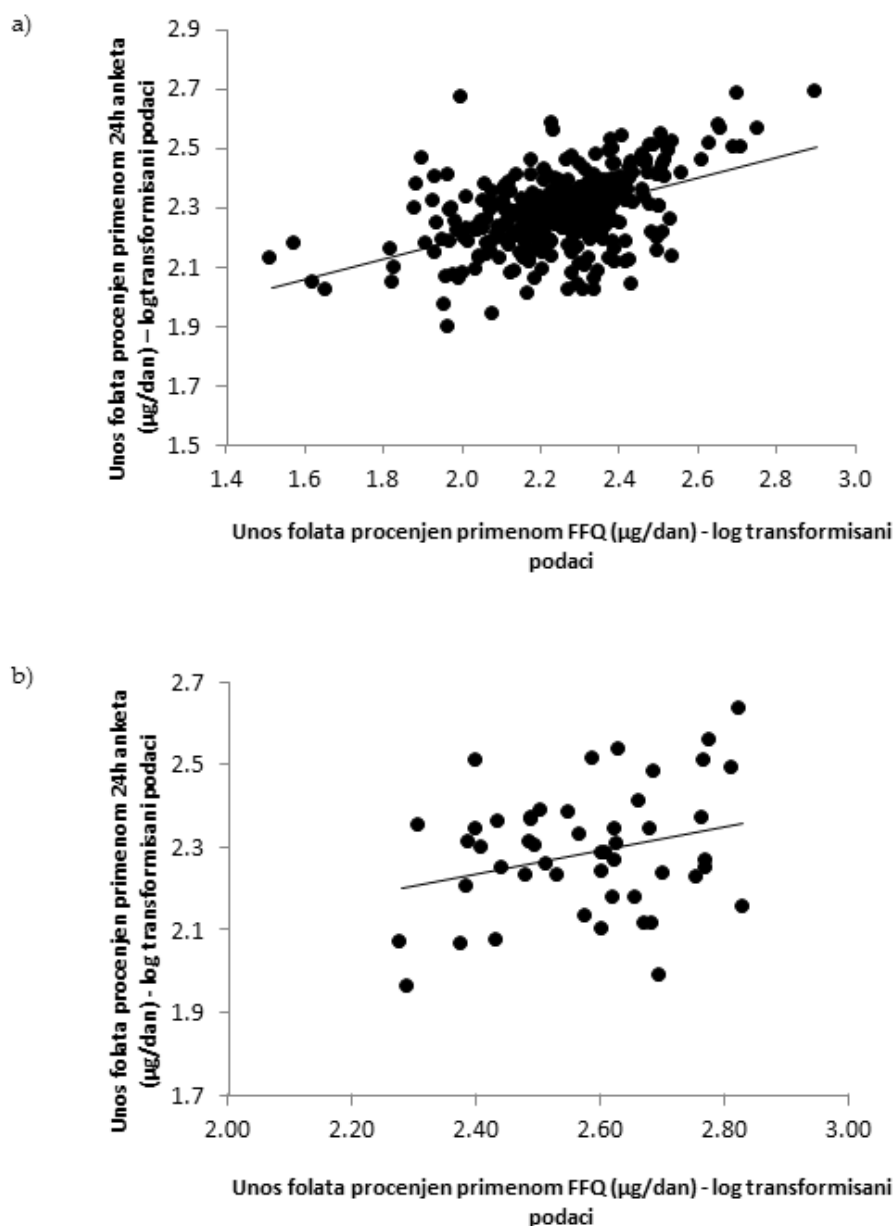
Tabela 10. Unakrsna klasifikacija (%) ispitanica u kvartile na osnovu procenjenog unosa folata primenom F-FFQ-a i referentnih validacionih metoda (srednja vrednost tri 24h ankete ishrane i biomarkeri statusa folata)

Metod za procenu unosa/statusa folata	Unos folata procenjen primenom F-FFQ-a			
	Isti kvartil	Isti ili susedni kvartil	Udaljeni kvartil	Apsolutno suprotan kvartil
24 h ankete ishrane	68	84	12	4
Koncentracija folata u eritrocitima	50	82	14	4
Koncentracija folata u serumu	48	82	12	6

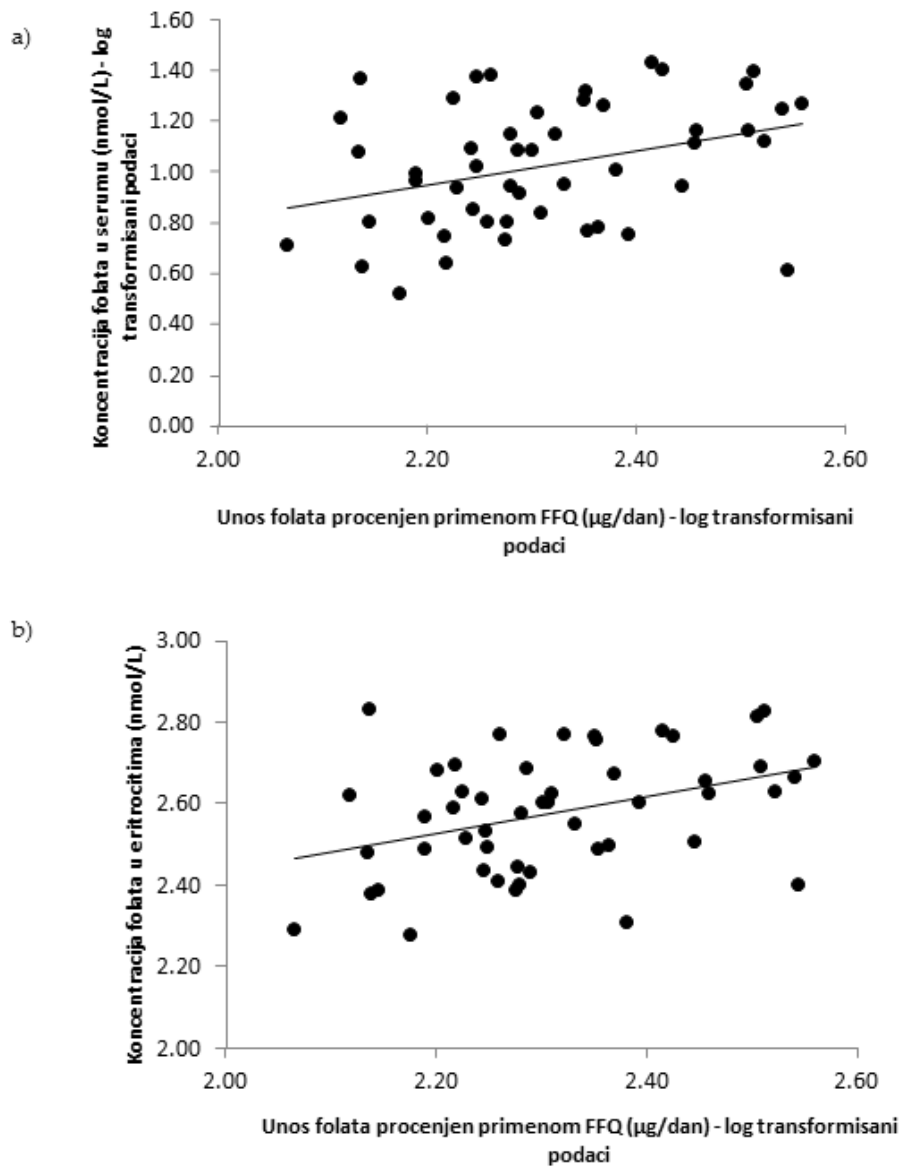
F-FFQ, Upitnik o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa među ženama reproduktivne dobi u Republici Srbiji

S ciljem vizualizacije slaganje između rezultata dobijenih primenom F-FFQ-a i ponovljenih 24h anketa ishrane, konstruisani su i Bland-Altman grafici za folate, energiju i makronutrijente (tj. ukupne masti, proteine i ukupne ugljene hidrate) (Slike 14 -19). U okviru pomenutih grafika aritmetička razlika između vrednosti unosa procenjenih primenom dve pomenute metode (F-FFQ – prosek tri 24h ankete ishrane) za svaku

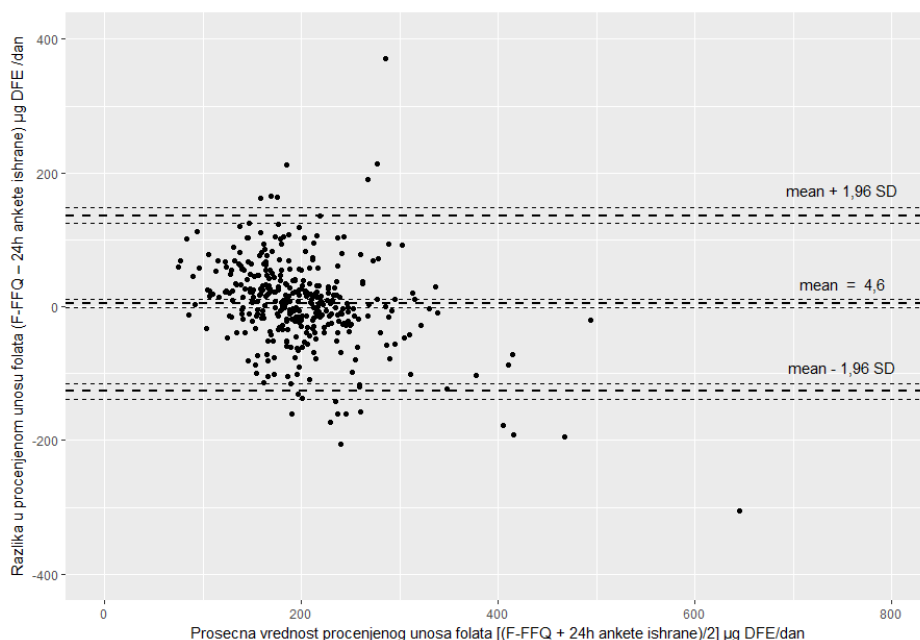
ispitanicu predstavljena je u odnosu na prosečnu vrednost unosa na osnovu ovih metoda ((F-FFQ + prosek tri 24h ankete ishrane)/2). Analizom Bland-Altman grafika potvrđeno je dobro slaganje metoda. Kada je reč o proceni unosa folata, manje od 5% slučajeva (konkretno 20 ispitanica, odnosno 3.98%) je bilo van definisanih limita slaganja.



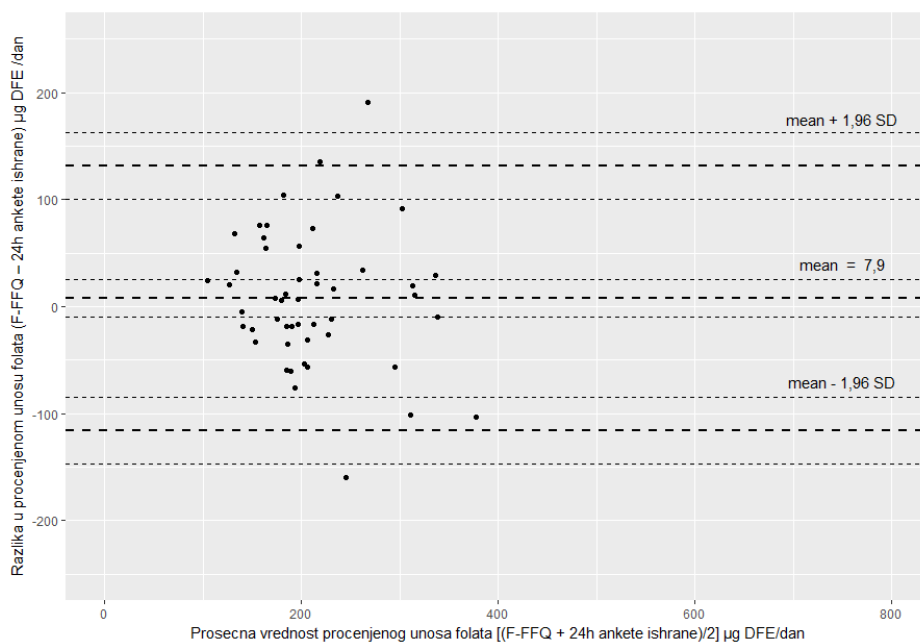
Slika 12. Korelacija između unosa folata procenjenih primenom F-FFQ-a i 24h anketa ishrane za a) kompletan uzorak ($r=0.56$, $p<0.001$) i b) validacionu podgrupu ($r=0.57$, $p<0.001$)



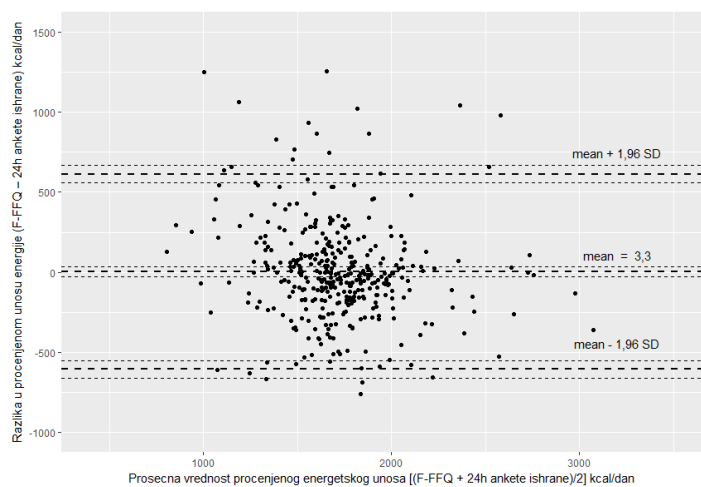
Slika 13. Korelacija između unosa folata procenjenih primenom F-FFQ-a i biomarkera statusa folata a) koncentracija folata u serumu ($r_{\text{ser}}=0.28$, $p<0.01$) i b) koncentracija folata u eritrocitima ($r_{\text{rbc}}=0.37$, $p<0.01$)



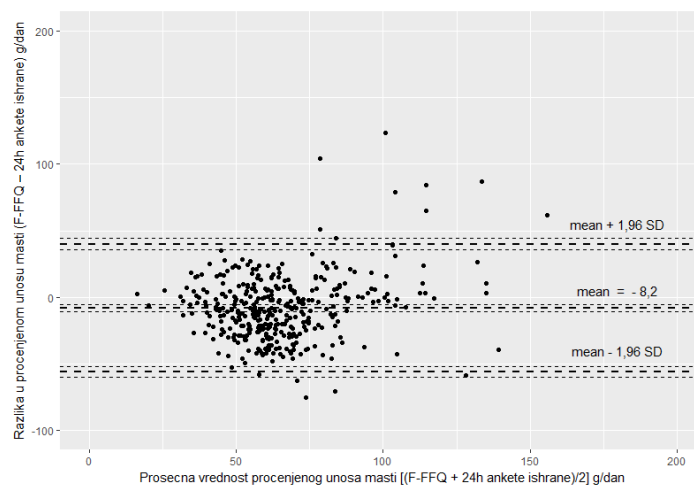
Slika 14. Bland-Altman dijagram za procenu slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa folata: prikaz na nivou kompletnog uzorka (n=503)



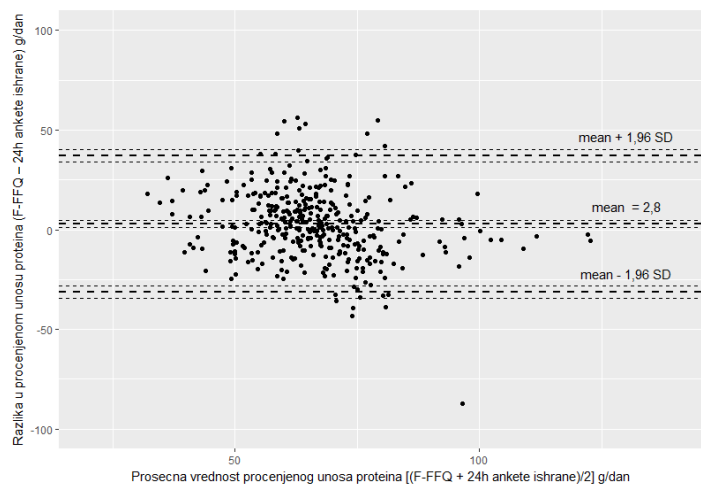
Slika 15. Bland-Altman dijagram za procenu slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa folata: prikaz na nivou validacione podgrupe (n=50)



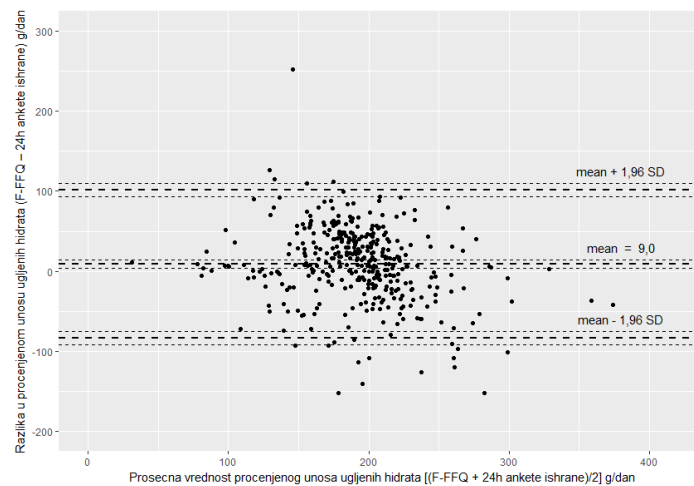
Slika 16. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa energije



Slika 17. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa masti



Slika 18. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa proteina

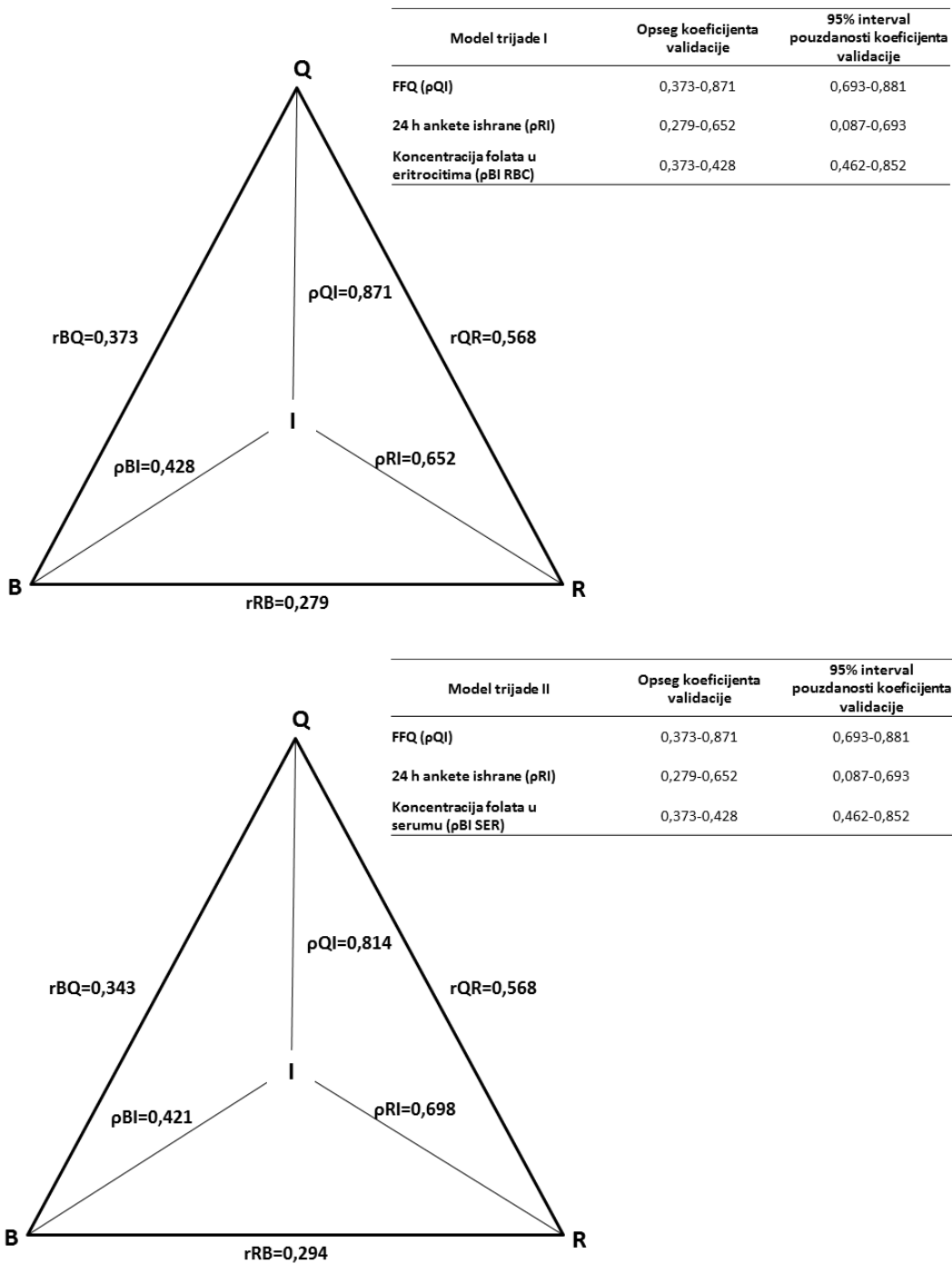


Slika 19. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa ugljenih hidrata

4.1.4 Validacija F-FFQ-a: metod trijade

Primena metode trijade omogućila je triangulaciono poređenje korelacionih koeficijenata utvrđenih između F-FFQ-a (Q), referentne metode - ponovljenih 24h anketa ishrane (R) i biohemijskih pokazatelja statusa folata (B) – koncentracije folata u serumu i koncentracije folata u eritrocitima (Slika 20). Prema modelu trijada, najpre su izračunati Pearson-ovi koeficijenti korelacije (r_{QB} , r_{RB} , r_{QR}) između podataka dobijenih svakom od tri primenjene metode, a potom i koeficijenti validacije.

U skladu sa očekivanjima, utvrđene su više vrednosti koeficijenata validacije za dijetarne upitnike (ρ_{QI} i ρ_{RI} , za F-FFQ i 24h ankete ishrane, redom) u odnosu na koeficijente validacije biomarkera statusa (ρ_{BI}). Kada je u konstrukciju modela trijade uključena koncentracija folata u serumu, koeficijent validacije F-FFQ iznosio je $\rho_{QI}=0.814$, a kada je korišćena koncentracija folata u eritrocitima dobijena je vrednost $\rho_{QI}=0.871$. U oba slučaja registrovani su uski intervali pouzdanosti, pri čemu su vrednosti gornje granice intervala bile ispod 1. To potvrđuje odsustvo tzv. Heywood slučajeva i kršenja bazičnih pretpostavki modela. Visoke vrednosti koeficijenta validacije F-FFQ-a, bez obzira na to koji je biomarker korišćen u modelu, ukazuju na snažnu povezanost između stvarnog, realnog dijetarnog unosa folata i vrednosti koje procenjuje F-FFQ.



Slika 20. Metodom trijade izračunati koeficijenti korelacije (r_{QB} , r_{RB} , r_{QR}) između unosa folata procenjenog pomoću F-FFQ (Q), srednje vrednosti unosa na osnovu tri 24h ankete ishrane (R) i biomarkera statusa (koncentracija folata u eritrocitima – model trijade I; koncentracija folata u serumu – model trijade II) (B), kao i koeficijenti validacije navedenih metoda (ρ_{QI} , ρ_{BI} , ρ_{RI}), koji ukazuje na povezanost stvarnog unosa folata (I) i procenjenih vrednosti

4.2 Rezultati KAP studije

4.2.1 Proces regrutacije ispitanika i struktura uzorka

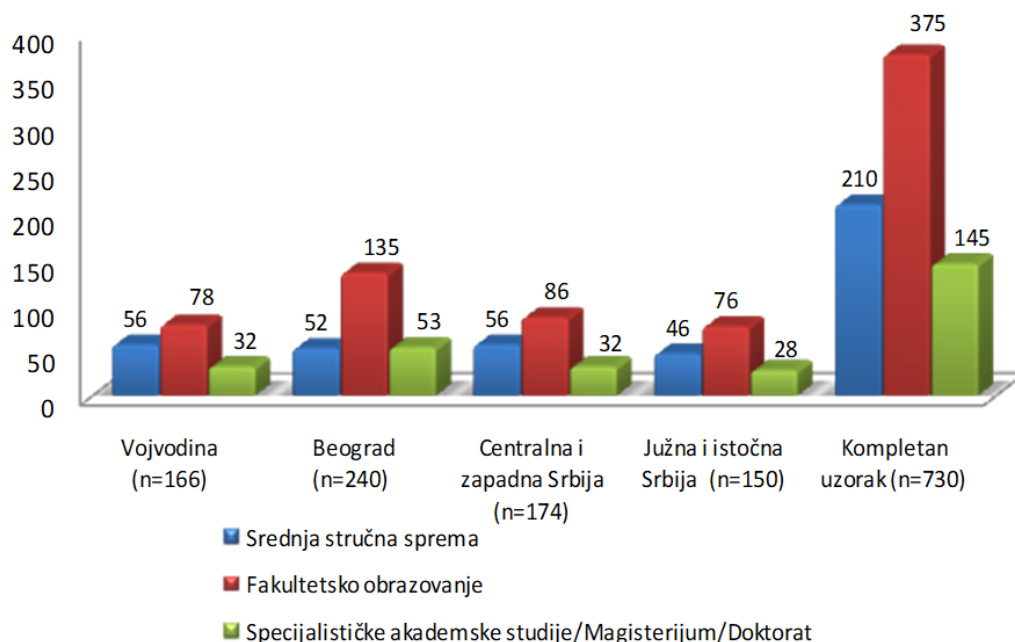
Tokom procesa regrutacije ispitanika za studiju procene znanja, stavova i prakse u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata, poziv za učešće u istraživanju dobio je 481 diplomirani farmaceut/magistar farmacije sa licencom, 87 farmaceuta-stažera i 256 farmaceutskih tehničara zaposlenih u javnim apotekama u Republici Srbiji. Među njima su 461 farmaceut sa licencom, 77 farmaceuta na obavljanju pripravničkog staža i 218 farmaceutskih tehničara dali dobrovoljni pristanak za učešće, što ukazuje na stopu odziva od 91.7%. Nakon detaljne provere kompletnosti upitnika, iz dalje analize su isključeni oni kod kojih je utvrđen nedostatak informacija koje se odnose na glavne istraživačke varijable (n=28), pa je, konačan broj validnih upitnika bio 730 (stopa odgovora=88.6%, stopa kompletnosti upitnika=92.9%).

Finalna analitička kohorta farmaceuta nije se statistički značajno razlikovala od direktorijuma Farmaceutske Komore Srbije, kada je reč o distribuciji ispitanika prema geografskim regionima koji odgovaraju ograncima Komore ($\chi^2=4.810$, $df=3$, $p=0.186$).

Prosečna starost ispitanika iznosila je 37.3 ± 10.3 godina (opseg: 21.0-66.0 godina), pri čemu je prosečna dužina radnog staža u apotekarskoj praksi bila 12.4 ± 9.9 godina (opseg: 0.5-40.0 godina). Prikaz sociodemografskih karakteristika i profesionalnog profila ispitanika na nivou kompletnog uzorka, kao i na nivou stratumata izdiferenciranih prema geografskim determinantama dat je u Tabeli 11. Bez obzira na region, među ispitanicima je bilo više žena nego muškaraca ($p < 0.001$). Ukupno 385 učesnika studije (52.7%) su bili roditelji, a među njima 47.8% je u trenutku istraživanja imalo jedno dete, 40.5% dvoje dece, a 11.7% troje ili više dece. Prema najvišem stepenu formalnog obrazovanja, dominirali su fakultetski obrazovani ispitanici, a prema vlasništvu apoteke u kojoj su zaposleni članovi farmaceutskog tima zabeležena je relativno ujednačena zastupljenost državnih i privatnih apoteka (47.8% *versus* 52.2% na nivou kompletnog uzorka) (Slika 21, Tabela 12).

Tabela 11. Struktura uzorka – sociodemografske karakteristike i profesionalni profil ispitanika u KAP studiji

		Geografski region								Kompletan uzorak (n=730)	
		Vojvodina (n=166)		Beograd (n=240)		Centralna i zapadna Srbija (n=174)		Južna i istočna Srbija (n=150)			
		n	%	N	%	n	%	n	%		
Pol	Muški	30	18.1	38	15.8	44	25.3	27	18.0	139	19.0
	Ženski	136	81.9	202	84.2	130	74.7	123	82.0	591	81.0
Starost (godine)	21 - 30	71	42.8	85	35.4	41	23.6	49	32.7	246	33.7
	31 - 40	51	30.7	72	30.0	73	42.0	44	29.3	240	32.9
	41 - 50	34	20.5	45	18.8	34	19.5	20	13.3	133	18.2
	51+	10	6.0	38	15.8	26	14.9	37	24.7	111	15.2
Godine radnog staža u apotekarskoj praksi (god)	Do 3 godine	57	34.3	73	30.4	34	19.5	38	25.3	166	22.7
	Od 3 do 10 godina	28	16.9	56	23.3	45	25.9	32	21.3	240	32.9
	Od 11 do 15 godina	27	16.3	26	10.8	39	22.4	26	17.3	174	23.8
	16+ godina	54	32.5	85	35.4	56	32.2	54	36.0	150	20.5
Profesionalni status	Farmaceuti	94	56.6	160	66.7	102	58.6	94	62.7	450	61.6
	Farmaceuti-stažeri	16	9.6	28	11.7	16	9.2	14	9.3	74	10.1
	Farm.tehničari	56	33.7	52	21.7	56	32.2	42	28.0	206	28.2
Bračni status	neudata/neoženjen	51	30.7	80	33.3	29	16.7	43	28.7	203	27.8
	udata/oženjen	78	47.0	100	41.7	99	56.9	77	51.3	354	48.5
	udovica/udovac	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
	razvedena/razveden	13	7.8	23	9.6	26	14.9	16	10.7	78	10.7
	živi sa partnerom	24	14.5	32	13.3	14	8.0	14	9.3	84	11.5



Slika 21. Struktura uzorka KAP studije na osnovu najvišeg stepena formalnog obrazovanja

Tabela 12: Struktura uzorka na osnovu tipa javnih apoteka u kojima su ispitanici zaposleni

		Geografski region				Kompletan uzorak (n=730)	
		Vojvodina (n=166)	Beograd (n=240)	Centralna i zapadna Srbija (n=174)	Južna i istočna Srbija (n=150)		
		%	%	%	%	N	%
Vlasništvo apoteke	Državne apoteke	37.3	45.8	56.9	52.0	349	47.8
	Privatne apoteke	62.7	54.2	43.1	48.0	381	52.2
Tip apoteke	samostalna javna apoteka (1 apoteka)	18.1	22.1	16.7	18.0	139	19.0
	deo manjeg lanca javnih apoteka (2-10 apoteka)	25.9	10.8	25.9	44.7	181	24.8
	deo srednjeg lanca javnih apoteka (11-25 apoteka)	20.5	21.7	35.6	21.3	180	24.7
	deo većeg lanca javnih apoteka (preko 26 apoteka)	35.5	45.4	21.8	16.0	230	31.5

4.2.2 Znanje ispitanika u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Primenom namenski kreiranog upitnika sa 13 pitanja ispitano je znanje ispitanika o izvorima, preporučenom unosu, ulozi i značaju folata. Srednja vrednost sumarnog skora na testu znanja za kompletnu studijsku kohortu iznosila je 7.27 ± 1.95 poena, sa empirijskim opsegom od 1 do 12 poena. Većina ispitanika (24.4%) je imala 7 tačnih odgovora, a ni kod jednog nije registrovan teorijski maksimalna vrednost skora od 13 poena.

Analiza rezultata je pokazala da su žene imale viši nivo znanja o ovoj temi u odnosu na muškarce (7.49 ± 1.91 vs. 6.31 ± 1.86 ; $t=43.614$, $p<0.0001$), kao i ispitanici zaposleni u javnim apotekama u privatnom vlasništvu u odnosu na one koji rade u državnim javnim apotekama (7.65 ± 2.01 vs. 6.84 ± 1.80 ; $t=32.817$, $p<0.001$). Ispitanici koji su roditelji ostvarili su bolji rezultat na testu u odnosu na njihove kolege bez dece (7.66 ± 1.75 vs. 6.82 ± 2.07 ; $t=35.679$, $p<0.001$), dok su učesnici studije stariji od 50 godina demonstrirali slabije znanje (6.14 ± 1.79) u poređenju sa mlađim kolegama ($M_{21-30 \text{ godina}} = 7.36 \pm 2.16$, $M_{31-40 \text{ godina}} = 7.72 \pm 1.97$, $M_{41-50 \text{ godina}} = 6.99 \pm 1.29$ ($F(3,726)=18.504$; $p<0.001$).

Analiza varijanse ukazala je na statistički značajan uticaj profesionalnog statusa na znanje o folatima ($F(2,727)=50.757$; $p<0.001$): farmaceutski tehničari imali su, u proseku, manje tačnih odgovora (6.14 ± 1.97) od farmaceuta – stažera (8.00 ± 1.67) i farmaceuta sa licencom (7.60 ± 1.82). Saglasno tome, niži nivo formalnog obrazovanja pratio je i niži skor na testu ($F(2,727)=59.391$; $p<0.001$). Ispitanici sa srednjom stručnom spremom su imali značajno slabije rezultate (6.18 ± 1.96) u odnosu na ispitanike sa fakultetskim (7.42 ± 1.76) ili posle diplomskim obrazovanjem (8.26 ± 1.80).

Utvrđen je i uticaj bračnog statusa na stepen obaveštenosti o suplementaciji folnom kiselinom ($F(3,715)=26.280$; $p<0.001$). Naime, učesnici istraživanja koji su u braku ili žive sa partnerom ostvarili su bolji skor (7.61 ± 1.66 i 8.11 ± 2.67 , redom) od ispitanika koji nisu u braku ili su razvedeni (6.68 ± 2.03 i 6.09 ± 1.29 , redom).

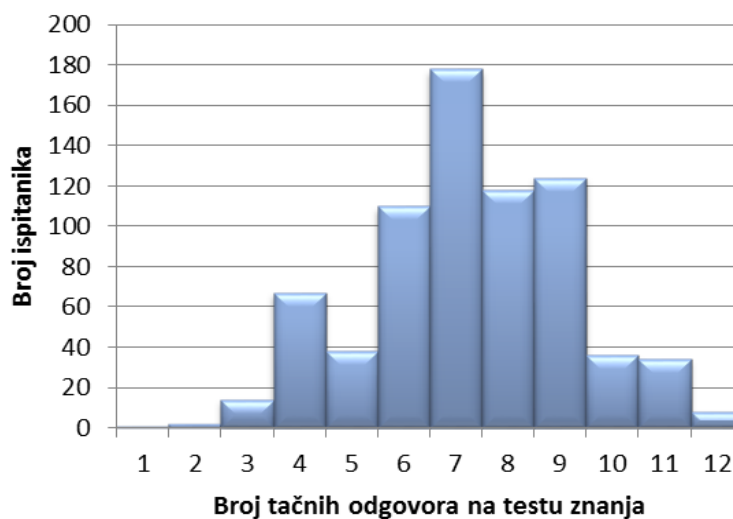
Distribucija frekvencije tačnih odgovora na testu za procenu znanja u odnosu na profesionalne grupe farmaceutskog tima data je u Tabeli 13.

Tabela 13. Distribucija tačnih odgovora na testu za procenu znanja u odnosu na profesionalne grupe farmaceutskog tima

Domen znanja	Farmaceuti sa licencom (n=450)		Farmaceuti stažeri (n=74)		Farmaceutski tehničari (n=206)		Kompletan uzorak (n=730)	
	Udeo tačnih odgovora							
	n	%	N	%	n	%	n	%
Poreklo folne kiseline: prirodna ili sintetska forma vitamina	113	25.1	33	44.6	31	15.0	177	24.4
Dobri dijetarni izvori folata	285	63.3	41	55.4	86	41.7	412	56.4
Važnost primene dijetetskih suplemenata folne kiseline kao dopunu raznovrsnoj ishrani u redukciji rizika od nastanka defekata nervne cevi	327	72.2	60	81.1	130	63.1	517	70.8
Fortifikacija namirnica folnom kiselinom: aktuelni status legislative i prakse u Republici Srbiji	95	21.1	28	37.8	79	38.3	202	27.7
Vrste deformiteta koji se mogu prevenirati folnom kiselinom	438	97.3	68	91.9	199	96.6	705	96.6
Preporučeni dnevni unos folata prema nutritivnim preporukama Svetske zdravstvene organizacije	351	78	50	67.6	88	42.7	489	67.0
Tolerišući gornji nivo unosa za folate prema nutritivnim preporukama Svetske zdravstvene organizacije	178	39.6	35	47.3	37	18.0	250	34.2
Koje žene treba da primenjuju dijetetske suplemente folne kiseline	367	81.6	62	83.8	133	64.6	562	77.0
Adekvatan vremenski okvir za suplementaciju folnim kiselinom	278	61.8	48	64.9	120	58.3	466	61.1
Vremenski okvir razvoja nervne cevi	276	61.3	39	52.7	96	46.6	411	56.3
Preporučena dnevna doza folne kiseline za žene reproduktivne dobi/ sposobne da ostanu u drugom stanju	414	92.0	50	67.6	98	47.6	562	77.0
Preporučena dnevna doza folne kiseline za žene koje su u prethodnim trudnoćama imale registrovane defekte nervne cevi ploda	187	41.6	46	62.2	80	38.8	313	42.9
Biološka raspoloživost folata iz hrane u odnosu na folnu kiseinu	112	24.9	32	43.2	89	43.3	233	31.9

4.2.3 Metrijska svojstva testa za procenu znanja

Analizom težine pitanja utvrđeno je da je težina 9 od 13 pitanja bila u strogim granicama optimalnog opsega sa udelom tačnih odgovora između 25% i 75%. Još tri pitanja imala su indeks težine blizu ovog intervala (vrednosti 24.4% i 77%), te se i za njih može smatrati da imaju prihvatljivu težinu. Za jedno pitanje je utvrđena izuzetno visoka stopa tačnih odgovora (96.6%), što je bilo i očekivano budući da se odnosi na opšte prepoznavanje činjenice da folna kiselina doprinosi redukciji rizika od nastanka defekata nervne cevi. Distribucija ispitanika prema broju tačnih odgovora ima zvonastu raspodelu i data je na Slici 22.



Slika 22. Distribucija ispitanika KAP studije prema broju tačnih odgovora na testu znanja

Pouzdanost testa znanja u celini, iskazana primenom Cronbach's α koeficijenta ukazala je na dobru internu konzistenciju instrumenta ($\alpha_{\text{znanje}}=0.834$), čime su potvrđeni nalazi pilot studije u kojoj je instrument preliminarno ispitan na manjem prigodnom uzorku (Detaljno objašnjenje razvoja upitnika izloženo je u poglavlju 3.2.3). Vrednosti Cronbach's α koeficijenta nakon uklanjanja pojedinačnih pitanja nisu značajno varirala od vrednosti generisane za upitnik u celosti (Tabela 14).

U okviru ispitivanja diskriminativnosti pitanja, za sva pitanja utvrđen je statistički značajan pointbiserijski koeficijent korelacije sa ukupnim skorom na testu. Takođe, vrednost koeficijenta bila je preko definisane granične vrednosti od 0.2 za sva pitanja, sa izuzetkom prethodno opisanog pitanja sa veoma visokom stopom tačnih odgovora. Za sva ostala pitanja se sa 99% nivoom pouzdanosti može zaključiti da ispitanici koji bolje rešavaju pojedinačne zadatke ujedno imaju veće skorove (postignuća) na skali procene znanja u celini (Tabela 14)

Tabela 14. Metrijska svojstva testa za procenu znanja

Oblast znanja	Težina pitanja (% udeo tačnih odgovora)	Koeficijent pointbiserijske korelacije	Cronbach's α ako se pitanje ukloni
Poreklo folne kiseline: prirodna ili sintetska forma vitamina	24.4	0.388**	0.812
Dobri dijetarni izvori folata	56.4	0.440**	0.83
Važnost primene dijetetskih suplemenata folne kiseline kao dopunu raznovrsnoj ishrani u redukciji rizika od nastanka defekata nervne cevi	70.8	0.438**	0.841
Fortifikacija namirnica folnom kiselinom: aktuelni status legislative i prakse u Republici Srbiji	27.7	0.153**	0.828
Vrste deformiteta koji se mogu prevenirati folnom kiselinom	96.6	0.125*	0.830
Preporučeni dnevni unos folata prema nutritivnim preporukama Svetske zdravstvene organizacije	67	0.393**	0.826
Tolerišući gornji nivo unosa za folate prema nutritivnim preporukama Svetske zdravstvene organizacije	34.2	0.294**	0.833
Koje žene treba da primenjuju dijetetske suplemente folne kiseline	77	0.315**	0.821
Adekvatan vremenski okvir za suplementaciju folnim kiselinom	61.1	0.326**	0.819
Vremenski okvir razvoja nervne cevi	56.3	0.565**	0.849
Preporučena dnevna doza folne kiseline za žene reproduktivne dobi/ sposobne da ostanu u drugom stanju	77	0.463**	0.837
Preporučena dnevna doza folne kiseline za žene koje su u prethodnim trudnoćama imale registrovane defekte nervne cevi ploda	42.9	0.228**	0.829
Biološka raspoloživost folata iz hrane u odnosu na folnu kiseinu	31.9	0.205**	0.878

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$

4.2.4 Stavovi ispitanika u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Većina ispitanika (n=545, 74.6% ukupnog uzorka) je imala generalno pozitivan stav o zdravstvenim benefitima primene dijetetskih suplemenata folne kiseline. Manji udeo farmaceutskih tehničara (58.7%) u odnosu na farmaceute sa licencom (79.3%) i farmaceute-stažere (82.4%) je prepoznalo kongenitalne anomalije kao veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta ($\chi^2=46.460$, $df=4$, $p<0.001$). Sve tri grupe ispitanika su izrazile zabrinutost zbog niskog nivoa obaveštenosti žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji o značaju i pravilnoj primeni folne kiseline. U skladu sa tim, velika većina ispitanika (95.7% žena i 98.6% muškaraca) se složila da je izuzetno važno unaprediti svest žena o ulozi ovog nutrijenta u prevenciji defekata nervne cevi.

Dok se 43.2 % farmaceutskih tehničara izjasnilo da smatra da pružanje informacija i saveta o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija u javnim apotekama nije njihova obaveza, takvo mišljenje je imalo svega 4.7% farmaceuta i nijedan farmaceut-stažer. Slično, značajno veći udeo farmaceutskih tehničara (37.4%) u odnosu na licencirane farmaceute i farmaceute-stažere (13.1% i 0%, redom) je iskazao uverenje da su pacijenti u javnim apotekama generalno nezainteresovani za usvajanje informacija koje se tiču primene dijetetskih suplemenata u okviru prekocepcijske i prenatalne nege ($\chi^2=81.342$, $df=4$, $p<0.001$). Statistički značajno više muškaraca nego žena (64.0% *versus* 30.8%) je izrazilo nelagodu u vezi sa pokretanjem teme planiranja porodice i prevencija defekata nervne cevi pri redovnim interakcijama sa pacijentima ($\chi^2=60.552$, $df=2$, $p<0.001$). Dodatno, muški ispitanici su bili skloniji da veruju da primena dijetetskih suplemenata folne kiseline doprinosi medikalizaciji trudnoće (53.3% vs. 37.1%, $\chi^2=40.167$, $df=2$, $p<0.001$). Distribucija frekvencija odgovora ispitanika na deo upitnika koji se odnosi na stavove u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata dat je u Tabeli 15.

Tabela 15. Distribucija stavova ispitanika u vezi sa savetovanjem žena o adekvatnom unosu folata

Distribucija frekvencija odgovora ispitanika (%)										
	Uopšte se ne slažem (1)	Ne slažem se (2)	Neutralni stav (3)	Slažem se (4)	U potpunosti se slažem(5)	Uopšte se ne slažem (1)	Ne slažem se (2)	Neutralni stav (3)	Slažem se (4)	U potpunosti se slažem(5)
	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva					Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija				
Farmaceuti sa licencom	0	2.7	10.9	51.7	34.7	0	1.8	25.1	0	73.1
Farmaceuti stažeri	0	1.4	4.1	32.4	62.1	0	0	5.4	37.8	56.8
Farmaceutski tehničari	1.9	14.1	42.2	30.6	11.2	1.9	0	13.2	49	35.9
	Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline					Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje				
Farmaceuti sa licencom	19.1	24.9	22.4	25.1	8.5	54.7	32.8	9.8	1.8	0.9
Farmaceuti stažeri	8.1	39.2	1.4	47.2	4.1	27	62.2	9.4	1.4	0
Farmaceutski tehničari	0	14.1	23.3	33	29.6	14.5	64.1	16.5	4.9	0
	Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi					Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva				
Farmaceuti sa licencom	0	7.1	36	52.4	4.5	17.8	40	29.1	13.1	0
Farmaceuti stažeri	0	0	28.4	70.2	1.4	6.7	54.1	39.2	0	0
Farmaceutski tehničari	0	1.9	34	55.3	8.8	0.5	48.5	13.6	23.8	13.6
	Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta					Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija				
Farmaceuti sa licencom	0	5.3	15.3	39.1	40.3	46	20.9	28.4	2.9	1.8
Farmaceuti stažeri	0	10.8	6.8	50	32.4	36.5	52.7	10.8	0	0
Farmaceutski tehničari	0	6.3	35	41.7	17	8.7	24.8	23.3	40.8	2.4
	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće					Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno				
Farmaceuti sa licencom	25.8	12.7	19.6	36.6	5.3	29.1	25.8	23.8	18.9	2.4
Farmaceuti stažeri	51.4	24.3	5.4	17.5	1.4	43.2	35.1	9.5	12.2	0
Farmaceutski tehničari	21.8	21.4	13.1	28.5	15	8.3	20.8	19.9	37.4	13.6
	Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija					U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi				
Farmaceuti sa licencom	0	1.8	5.8	30.4	62	26.4	23.8	16	30	3.8
Farmaceuti stažeri	0	0	6.8	29.7	63.5	6.7	29.7	20.3	41.9	1.4
Farmaceutski tehničari	1.9	0	30.6	51.5	16	7.3	35	15.4	24.3	18
	Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folata					Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti				
Farmaceuti sa licencom	22	54.7	20.6	1.8	0.9	0.9	1.8	2.7	24.2	70.4
Farmaceuti stažeri	12.2	56.7	23	0	8.1	0	0	5.4	25.7	68.9
Farmaceutski tehničari	13.6	73.3	12.1	1	0	0	1.9	15	34.6	48.5

4.2.5 Faktorska analiza strukture upitnika za procenu stavova

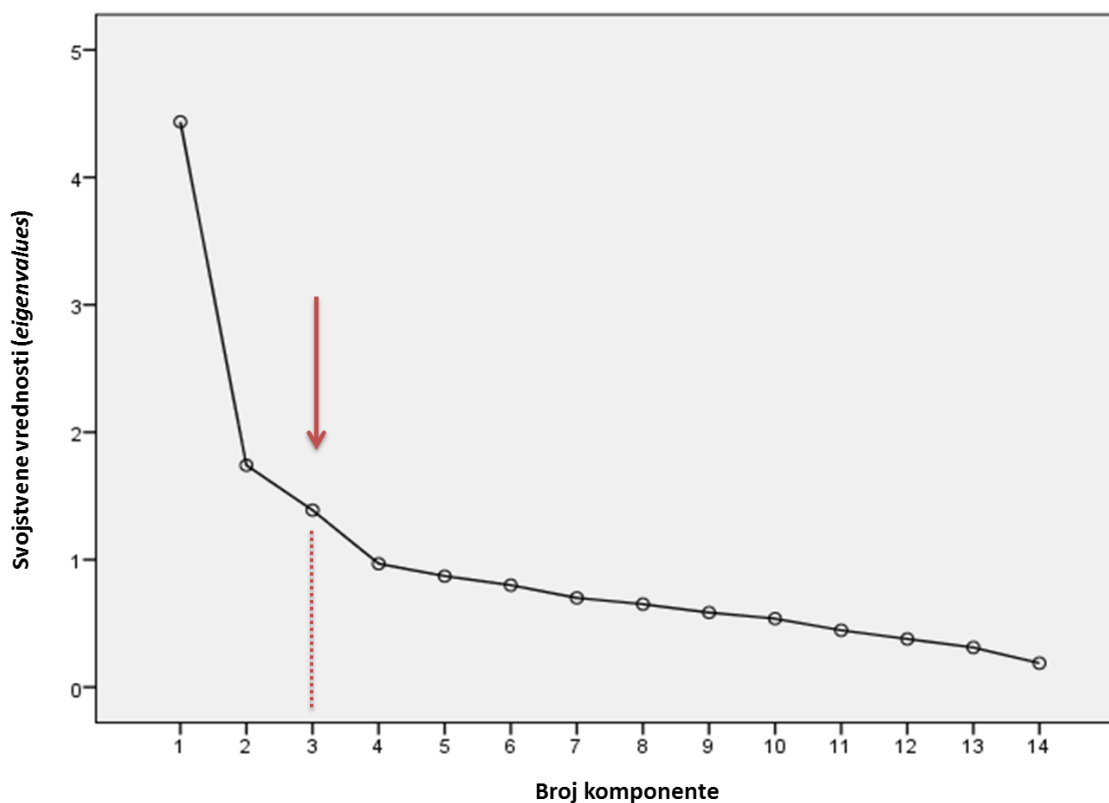
Upitnik za procenu stavova ispitanika u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata podvrgnut je analizi faktorske strukture primenom analize glavnih komponenti (eng. *Principal Component Analysis, PCA*). Ovaj metod za redukciju dimenzionalnosti podrazumeva rad sa ukupnom varijansom promenljivih, koja obuvata komunalitet i unikatitet, i zasniva se na sažimanju prvobitnih - manifestnih varijabli u latentne varijable.

Prvi korak u sprovođenju ove analize podrazumeva procenu podobnosti tj. prikladnosti podataka za faktorizaciju i, s tim u vezi, primenjeno je nekoliko tehnika. Prvo je u matrici interkorelacija utvrđeno da 13 od 14 stavki ima koeficijent korelacije preko 0.3 sa najmanje jednom stavkom. Dodatno, sproveden je Bartlett-ov test sfericiteta i utvrđen je Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pokazatelj adekvatnosti uzorka. Budući da je Bartlett-ov test sferičnosti dostigao statističku značajnost, a vrednost Kaiser-Meyer-Olkin (KMO) pokazatelja prevazišla preporučenu graničnu vrednost od 0.6 potvrđena je faktorabilnost korelacione matrice (KMO 0.807; $\chi^2(91)=3317.70$, $p<0,001$) i opravdanost analize glavnih komponenti.

Za određivanje broja faktora primenjen je Kaiser-Guttman kriterijum i dijagram prevoja tj. Cattell-ov kriterijum. Analiza glavnih komponenti ukazala je na 3 komponente sa karakterističnim (svojstvenim) vrednostima tj. jediničnim/latentnim korenima (eigenvalues) preko 1. U faktorskoj analizi svojstvena vrijednost određenog faktora jednaka je sumi kvadrata faktorskih opterećenja po svim varijablama za taj faktor. Svojstvene vrednosti (eigenvalues) za prva tri faktora iznosile su 4.44, 1.74 i 1.39. Ta tri faktora zajedno objašnjavaju 54.04% ukupne varijanse pri čemu je doprinos prve komponente 31.68%, druge 12.43% i treće 9.92%. Doprinos ostalih komponenti znatno je manji i kreće se u opsegu 1.34% do 6.92% (Tabela 16).

Tabela 16. Svojstvene vrednosti faktora i doprinos ukupnoj varijansi prema analizi glavnih komponenti

Komponenta/ factor	Inicijalne vrednosti			Ekstrahovana suma kvadratnih opterećenja			Rotirana suma kvadratnih opterećenja
	Svojstvene vrednosti eigenvalues	Postotak varijanse	Kumulativni postotak varijanse	Svojstvene vrednosti- eigenvalues	Postotak varijanse	Kumulativni postotak varijanse	Svojstvene vrednosti- eigenvalues
1	4.44	31.68	31.68	4.44	31.68	31.68	3.57
2	1.74	12.43	44.12	1.74	12.43	44.12	3.25
3	1.39	9.92	54.04	1.39	9.92	54.04	1.44
4	0.97	6.92	60.95				
5	0.87	6.22	67.18				
6	0.80	5.71	72.89				
7	0.70	5.00	77.89				
8	0.65	4.65	82.54				
9	0.59	4.18	86.72				
10	0.54	3.84	90.55				
11	0.45	3.18	93.74				
12	0.38	2.70	96.44				
13	0.31	2.22	98.66				
14	0.19	1.34	100.00				



Slika 23. Dijagram prevoja svojstvenih vrednosti i primena Catell-ovog kriterijuma za određivanje broja faktora

S ciljem preraspodele opterećanja i boljeg pozicioniranja faktora u prostoru sprovedena je rotacija ekstrahovanih faktora. Odabrana je kosougla rotacija, kao fleksibilniji i realističniji tip koji ne podrazumeva odstustvo korelacije među faktorima. Rotirano rešenje je ukazalo na postojanje tzv. jednostavne strukture u kojoj sva tri faktora imaju dosta visokih faktorskih težina i sve promenljive daju značajna faktorska opterećenja samo po jednom faktoru (Tabela 17).

Pregledom dijagrama prevoja (*Scree plot*), oji je konstruisan nanošenjem ekstrahovanih komponenti na apscisu i svojstvenih vrednosti (karakterističnih korena) na ordinatu, potvrđeno je postojanje tačke preloma na nivou treće komponente, čime je podržana odluka o razmatranju tri faktora (Slika 23).

Tabela 17. Matrica faktorskih opterećenja sa Oblimin rotacijom za trofaktorsko rešenje

Stav		Faktorska opterećenja			Komunaliteti – deo varijanse objašnjen zajedničkim faktorima
		Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3	
12	Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno	0.775			0.705
11	Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija	0.751			0.748
10	Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva	0.707			0.511
2	Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline	0.681			0.488
5	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće	0.666			0.560
6	Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija	-0.546			0.571
1	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva		0.772		0.736
8	Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija		0.724		0.620
4	Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta		0.694		0.502
9	Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje		-0.586		0.369
14	Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti		0.551		0.434
7	Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folate			0.644	0.481
13	U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi			-0.613	0.378
3	Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi			0.449	0.461

Glavni cilj rotacije faktora bilo je prilagođavanje faktorske matrice u cilju unapređenja interpretabilnosti podataka. Faktorska opterećenja predstavljaju koeficijente korelacije između faktora i varijabli, odnosno ukazuju na značaj svake varijable za pojedini faktor. Vrednosti komunaliteta ukazuju na zajedničkim faktorom objašnjen deo varijanse za svaku stavku. U izloženom trofaktorskom rešenju utvrđena su visoke apsolutne vrednosti faktorskih opterećenja, a potvrđeno je i da sve stavke imaju zadovoljavajuću vrednost komunaliteta (>0.3) tj. da se dobro uklapaju u propadajući faktor sa ostalim stavkama.

U narednom koraku izvršena je nominacija i tumačenje ekstrahovanih faktora.

Prvi faktor je označen kao Reaktivan pristup pružanju informacija i saveta u vezi folne kiseline i čine ga sledeći stavovi:

- Stav 12: Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno
- Stav 11: Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija
- Stav 10: Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva
- Stav 2: Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline
- Stav 5: Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće
- Stav 6: Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija*

*Napomena: stav 6 je uključen uz negativan predznak

Drugi faktor je označen kao Uvažavanje javnozdravstvenog značaja perikonceptijske suplementacije folnom kiselinom, a stavke koje su za ovaj faktor demonstrirale visoka faktorska opterećenja bile su:

- Stav 1: Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva
- Stav 8: Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija
- Stav 4: Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta
- Stav 9: Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje*
- Stav 14: Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti

*Napomena: stav 9 je uključen uz negativan predznak

Treći faktor je označen kao *Stepen obaveštenosti i diseminacija informacija o primeni folne kiseline* i sadrži sledeće stavove:

- Stav 7: Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folata
 - Stav 13: U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi*
 - Stav 3: Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspoložu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi
- *Napomena: stav 13 je uključen uz negativan predznak

Analizom korelacionog matriksa za izlučene faktore utvrđena je negativna korelacija slabog intenziteta između prvog i drugog faktora ($r = -0.249$), dok značajnije korelacije nije bilo između drugih faktora.

U cilju ispitivanja pouzdanosti upitnika za procenu stavova određena je vrednost Cronbach's α koeficijenta za svaki faktor ponaosob i ukupna vrednost za upitnik. Veća vrednost koeficijenta svedoči o većoj pouzdanosti, odnosno pokazuje da atributi istog faktora zaista mere istu pojavu. Cronbach's α koeficijenti svih faktora i kompletnog upitnika >0.7 potvrdili su dobru internu konzistenciju instrumenta (Tabela 18).

Tabela 18. Pouzdanost skale stavova

	Broj stavki	Cronbach's α koeficijent
Faktor I - Reaktivan pristup pružanju informacija i saveta u vezi folne kiseline	6	0.816
Faktor II - Uvažavanje javnozdravstvenog značaja perikonceptijske suplementacije folnom kiselinom	5	0.822
Faktor III - Stepen obaveštenosti i diseminacija informacija o primeni folne kiseline	3	0.763
Upitnik za procenu stavova u celosti	14	0.817

4.2.6 Praksa farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Većina ispitanika (n=399, 54.7% kompletnog uzorka) se izjasnila da informacije o primeni folne kiseline pre začeća i tokom trudnoće pruža jednom nedeljno ili nekoliko puta mesečno, dok je samo 10 učesnika studije (sve farmaceuti sa licencom) tvrdilo da to čini svakodnevno (Tabela 19). Sa druge strane, 69.9% ispitanika je potvrdilo da kontracepcijske preparate, vitaminsko-mineralne dijetetske suplemente, testove za utvrđivanje plodnih dana tokom ciklusa i dijagnostička sredstva za utvrđivanje trudnoće izdaje ženama reproduktivne dobi jednom ili više puta dnevno. Najviše ispitanika se izjasnilo da informacije o adekvatnom unosu folata i merama prevencije kongenitalnih anomalija pruža često ili uvek pri izdavanju lekova koji mogu izazvati deficijenciju ovog vitamina (59.3%), a najmanje da to čini prilikom izdavanja oralne kontracepcije i medicinskih sredstava za kontrolu začeća (4.9%) (Tabela 20).

Statistički značajno više farmaceuta (49.2%) nego farmaceutskih tehničara (32.5%) je prijavilo prethodnu edukaciju na temu efekata folne kiseline na očuvanje i unapređenje zdravlja ($\chi^2=9.496$, $df=2$, $p<0.01$), a ukupno 671 ispitanik se izjasnio zainteresovanim za dodatno informisanje. Glavni izvori informacija koje su farmaceuti i farmaceutski tehničari koristili za unapređenje i ažuriranje znanja u vezi sa folatima prikazani su u Tabeli 21. Analiza anketnih odgovora je pokazala da su ispitanici mlađi od 45 godina statistički značajno češće samostalno tragali za informacijama o perikonceptijskoj primeni folne kiseline u odnosu na njihove starije kolege ($\chi^2=48.18$, $df=2$, $p<0.001$), a isto je važno i za roditelje u odnosu na ispitanike bez dece ($\chi^2=31.22$, $df=2$, $p<0.001$), kao i farmaceute u odnosu na farmaceutske tehničare ($\chi^2=55.53$, $df=2$, $p<0.001$). Ukupno 254 (34.8%) ispitanika je potvrdilo dostupnost informativnih materijala (brošura, letaka, postera i dr.) o folnoj kiselini i/ili preporučenom unosu vitamina i minerala pre začeća i tokom trudnoće u apoteci u kojoj su zaposleni.

Prema sopstvenom iskazu, 36.7% ispitanika najčešće pruža informacije i savete u vezi folne kiseline samoinicijativno, dok 63.3% to dominantno čini reaktivno, odnosno na

zahtev/pitanje pacijenta. Utvrđeno je da na komunikacionu strategiju tj. pristup u diseminaciji podataka o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija značajno utiču pol ($\chi^2=12.43$, $df=2$, $p<0.001$) i aktuelni profesionalni status ($\chi^2=10.289$, $df=4$, $p<0.01$). Prema rezultatima istraživanja, veća verovatnoća proaktivne savetodavne prakse zabeležena je kod žena u odnosu na muške članove farmaceutskog tima (39.8% vs. 23.7%), kao i kod farmaceuta sa licencom i farmaceuta stažera (40.2% i 42.5%, redom) u odnosu na farmaceutske tehničare (27.7%).

Nedostatak vremena i/ili adekvatnog prostora i deficit motivacije članova farmaceutskog tima su ispitanici identifikovali kao ključne barijere koji ometaju ili onemogućavaju redovno pružanje informacija i saveta o primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline pacijentkinjama reproduktivne dobi u javnim apotekama. Muškarci su statistički značajno češće od žena (61.9% vs. 39.4%) percepirali tabu teme planiranja porodice i prevencije kongenitalnih anomalija kao ometajući faktor sprovođenju ovih aktivnosti ($\chi^2=23.044$, $df=1$, $p<0.001$), a isto je zabeleženo i kod ispitanika koji nemaju potomstvo (66.0%) u odnosu na roditelje (45.4%) ($\chi^2=30.979$, $df=1$, $p<0.001$). Nedostatak finansijske kompenzacije za pružanje pomenutih usluga bio je statistički zastupljeniji među preprekama koje su prepoznali farmaceutski tehničari (43.7%) i farmaceuti stažeri (43.2%) u odnosu na farmaceute sa licencom (29.1%) ($\chi^2=15.942$, $df=2$, $p<0.001$) (Tabela 22).

Na osnovu izveštaja ispitanika, prilikom savetovanja o folatima, članovi farmaceutskog tima ne izostavljaju podatke o preporučenoj vrednosti dnevnog unosa ovog vitamina, a sa velikom učestalošću pominju i efikasnost folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi. Sa druge strane, najređe pominju prirodne izvore folata i razlike u biološkoj raspoloživosti folne kiseline u zavisnosti od toga da li se uzima uz obrok ili na prazan stomak (Tabela 23).

Tabela 19. Distribucija učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima u javnim apotekama: prikaz prema profesionalnom statusu, polu, geografskom stratumu i vlasništvu apoteke

	Učestalost pružanja informacija o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija					
	svakodnevno	nekoliko puta nedeljno	jednom nedeljno	nekoliko puta mesečno	jednom mesečno	Retko
Farmaceuti sa licencom	10 (2.2%)	92 (20.4%)	170 (37.8%)	88 (19.6%)	28 (6.2%)	62 (13.8%)
Farmaceuti stažeri	0 (0%)	18 (24.3%)	23 (31.1%)	9 (12.2%)	8 (10.8%)	16 (21.6%)
Farmaceutski tehničari	0 (0%)	14 (6.8%)	33 (16.0%)	76 (36.9%)	51 (24.7%)	32 (15.5%)
Žene	2 (0.3%)	111 (18.8%)	179 (30.3%)	127 (21.5%)	82 (13.8%)	90 (15.2%)
Muškarci	8 (5.8%)	13 (9.4%)	47 (33.8%)	46 (33.1%)	5 (3.6%)	20 (14.4%)
Vojvodina	4 (2.4%)	24 (14.5%)	54 (32.5%)	39 (23.5%)	22 (13.3%)	23 (13.9%)
Beograd	6 (2.5%)	63 (26.3%)	88 (36.7%)	48 (20.0%)	20 (8.3%)	15 (6.3%)
Centralna i zapadna Srbija	0 (0%)	25 (14.4%)	36 (20.7%)	55 (31.6%)	21 (12.1%)	37 (21.3%)
Južna i istočna Srbija	0 (0%)	12 (8.0%)	48 (32.0%)	31 (20.7%)	24 (16.0%)	35 (23.3 %)
Apoteke u privatnom vlasništvu	5 (1.4%)	41 (11.8%)	101 (28.9%)	104 (29.8%)	40 (11.5%)	58 (16.6%)
Apoteke u državnom vlasništvu	5 (1.3%)	83 (21.8%)	125 (32.8%)	69 (18.1%)	47 (12.3%)	52 (13.7%)
Ukupno	10 (1.4%)	124 (16.9%)	226 (31.0%)	173 (23.7%)	87 (11.9%)	110 (15.1%)

Tabela 20. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama

Učestalost pružanja informacija i saveta o adekvatnom unosu folata prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda (%)						
Geografski region	Vrsta proizvoda	Nikada	Retko	Povremeno	Često	Uvek
Vojvodina n=166	Kontracepcijski preparati	29.5	31.3	30.7	8.4	0.0
	Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	3.6	10.2	48.8	34.9	2.4
	Testovi za utvrđivanje plodnih dana	10.2	31.9	38.6	14.5	4.8
	Testovi za utvrđivanje trudnoće	8.7	12.7	37.3	38.0	3.6
	Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata	3.0	2.4	27.7	62.0	4.8
Beograd n=240	Kontracepcijski preparati	15.8	36.7	42.1	5.4	0.0
	Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	2.9	10.4	38.8	46.2	1.7
	Testovi za utvrđivanje plodnih dana	2.5	22.5	37.1	32.9	5.0
	Testovi za utvrđivanje trudnoće	3.8	15.4	33.8	43.8	3.3
	Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata	0.4	6.7	28.8	50.4	13.8
Centralna i zapadna Srbija n=174	Kontracepcijski preparati	26.4	52.3	19.5	1.7	0.0
	Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	3.4	16.7	42.0	36.8	1.1
	Testovi za utvrđivanje plodnih dana	16.1	33.3	32.3	16.1	2.3
	Testovi za utvrđivanje trudnoće	9.8	27.6	35.6	24.7	2.3
	Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata	5.2	11.5	34.5	40.8	8.0
Južna i istočna Srbija n=150	Kontracepcijski preparati	30.0	38.0	28.0	4.0	0.0
	Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	0.0	27.3	34.0	35.3	3.3
	Testovi za utvrđivanje plodnih dana	12.7	30.0	39.3	18.0	0.0
	Testovi za utvrđivanje trudnoće	14.7	20.0	42.7	18.0	4.7
	Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata	1.3	8.0	35.3	40.0	15.3
Kompletan uzorak n=730	Kontracepcijski preparati	24.4	39.5	31.2	4.9	0.0
	Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	2.6	15.3	40.8	39.2	2.1
	Testovi za utvrđivanje plodnih dana	9.6	28.8	36.7	21.6	3.3
	Testovi za utvrđivanje trudnoće	8.5	18.6	36.8	32.6	3.4
	Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata	2.3	7.1	31.2	48.6	10.7

Tabela 21. Izvori informacija o preporučenim vrednostima unosa, ulozi i značaju folne kiseline

Glavni izvori informacija o preporučenim vrednostima unosa, ulozi i značaju folne kiseline*	Grupe ispitanika prema profesionalnom statusu			Kompletan uzorak n=730
	Farmaceuti sa licencom n=450	Farmaceuti stažeri n=74	Farmaceutski tehničari n=206	
Predstavnici farmaceutskih kompanija	200 (44.4%)	25 (33.8%)	92 (44.7%)	317 (43.4%)
Kursevi kontinuirane edukacije	261 (58.0%)	8 (10.8%)	76 (36.9%)	345 (47.3%)
Sajtovi relevantnih institucija (domaćih i međunarodnih)	210 (46.7%)	67 (90.5%)	100 (48.5%)	377 (51.6%)
Stručni časopisi i knjige	192 (42.7%)	67 (90.5%)	39 (18.9%)	298 (40.8%)
Sredstva javnog informisanja (TV, radio, štampa, internet)	127 (28.2%)	26 (35.1%)	132 (64.1%)	285 (39.0%)
Srtručni skupovi i kongresi	167 (37.1%)	20 (27.0%)	74 (35.9%)	261 (35.8%)
Poslednji pristup informacijama o folatima				
Pre više od 5 godina	111 (24.7%)	0 (0.0%)	4 (1.9%)	115 (15.8%)
Pre 4-5 godina	94 (20.9%)	1 (1.4%)	34 (16.5%)	129 (17.7%)
Pre 2-3 godine	153 (34.0%)	46 (63.9%)	79 (38.3%)	278 (38.2%)
Pre 6 meseci -godinu dana	66 (14.7%)	21 (29.2%)	49 (23.8%)	136 (18.7%)
Pre 3-6 meseci	25 (5.6%)	2 (2.8%)	32 (19.4%)	59 (8.1%)
U poslednja 3 meseca	1 (0.2%)	2 (2.8%)	8 (3.9%)	11 (1.5%)
Dodatna edukacija o folnoj kiselini i njenom značaju za zdravlje				
Zainteresovani	440 (97.8%)	69 (93.2%)	162 (78.6%)	671 (91.9%)

*odobren izbor više ponuđenih odgovora

Tabela 22. Glavne barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata ženama reproduktivne dobi u apotekama

Glavne barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata ženama reproduktivne dobi u apotekama*	Grupe ispitanika prema profesionalnom statusu			Kompletan uzorak n=730
	Farmaceuti sa licencom n=450	Farmaceuti stažeri n=74	Farmaceutski tehničari n=206	
Nedostatak vremena i/ili adekvatnog prostora u apoteci	283 (62.9%)	50 (67.6%)	99 (48.1%)	432 (59.2%)
Nezainteresovanost pacijentkinja	164 (36.4%)	34 (45.9%)	61 (29.6%)	259 (35.5%)
Nepostojanje materijalne stimulacije za pružanje ove usluge	131 (29.1%)	32 (43.2%)	90 (43.7%)	253 (34.7%)
Tabu teme planiranja potomstva i prevencije kongenitalnih anomalija	213 (47.3%)	23 (31.1%)	83 (40.3%)	319 (43.7%)
Nedostatak znanja farmaceuta i farmaceutskih tehničara i nedovoljna dostupnost informacija o preporukama vezanim za unos folate	131 (29.1%)	23 (31.1%)	89 (43.2%)	243 (33.3%)
Nedovoljna motivisanost farmaceuta i farmaceutskih tehničara	214 (47.6%)	43 (58.1%)	127 (61.7%)	384 (52.6%)

*odobren izbor više ponuđenih odgovora

Tabela 23. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima i primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline: prikaz po tematskim oblastima

Tematske oblasti	Učestalost pružanja informacija i saveta (%)				
	nikada	retko	Povremeno	često	Uvek
Prirodni izvori folata	11.8	55.2	26.4	5.5	1.1
Preporučene vrednosti unosa	0.0	2.9	13.2	44.2	39.7
Interakcije u koje stupaju folati sa lekovima	13.6	27.4	40.1	17.3	1.6
Adekvatan trenutak za započinjanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline i dužina primene tokom planiranja trudnoće	0.7	7.8	28.9	42.6	20
Posledice neadekvatnog statusa folata	16.7	35.2	23.8	20.1	4.1
Efikasnost folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija	2.3	8.8	28.1	48.1	12.7
Biološka raspoloživost folne kisele kiseline u zavisnosti od toga da li se uzima na prazan stomak ili uz obrok	13.7	51.4	27.1	5.9	1.9

4.2.7 Stavovi, znanja i izvori informacija studenata farmacije u vezi sa perikonceptijskom primenom dijetetskih suplemenata folne kiseline

U okviru studije je distribuirano ukupno 180 upitnika studentima završne (pete) godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu, a ukupan broj vraćenih upitnika iznosio je 163. Nakon odbacivanja upitnika koji su bili nepotpuno/neadekvatno popunjeni, u analizu je uključeno 151 upitnika (stopa odgovora: 83.9%). U okviru analitičke kohorte dominirale su studentkinje (80.8%), a prosečna starost ispitanika bila je 24.4 ± 2.6 godina.

Ispitanici su demonstrirali generalno pozitivan stav o primeni folne kiseline: 78.14% ispitanika se složilo da je primena dijetetskih suplemenata ovog nutrijenta važna za obezbeđivanje zdravog potomstva. Većina ispitanih studenata prepoznala je kongenitalne anomalije tipa defekata nervne cevi kao veliki javnozdravstveni problem u perspektivi morbiditeta, mortaliteta, ali i ekonomskih i humanističkih determinanti. Sumnju u dovoljnu informisanost žena u Republici Srbiji o ovoj temi izrazilo je preko 60% studenata i, u skladu sa tim, preko 90% se složilo da je važno unaprediti svest o značaju optimalnog statusa folata na nivou opšte populacije.

Studenti su većim delom bili saglasni da farmaceuti i farmaceutski tehničari imaju važnu ulogu i odličnu poziciju u zdravstvenom sistemu za sprovođenje aktivnosti vezanih za promociju zdravlja i prevenciju bolesti. Samo 3 ispitanika (1.99%) su imala snažno izražen stav da je nije profesionalna odgovornost članova farmaceutskog tima da pružaju informacije i savete ženama reproduktivne dobi o biološkoj ulozi i značaju folata.

Neprijatnost pri iniciranju diskusije o defektima nervne cevi, kongenitalnim anomalijama i planiranju porodice izrazilo je 90 studenata (59.60%). Uprkos tome, 95 ispitanika (62.91%) je podržalo proaktivan pristup diseminaciji informacija o folatima u javnim apotekama.

Distribucija odgovora ispitanika predstavljena je u Tabeli 24.

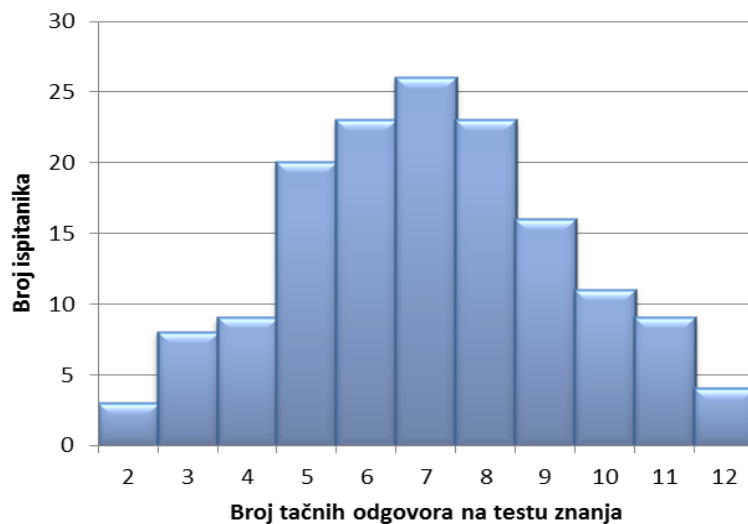
Tabela 24. Distribucija stavova studenata farmacije u vezi sa perikonceptijskom primenom dijetetskih suplemenata folne kiseline

Distribucija frekvenci (%) odgovora ispitanika				
Uopšte se ne slažem (1)	Ne slažem se (2)	Neutralni stav (3)	Slažem se (4)	U potpunosti se Slažem (5)
Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva				
3.97	6.62	11.26	41.72	36.42
Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline				
7.95	19.21	27.81	26.49	18.54
Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi				
0.00	11.92	37.75	43.05	7.28
Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta				
0.00	5.96	36.42	44.37	13.25
Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće				
20.53	31.13	26.49	14.57	7.28
Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija				
1.99	5.30	29.80	46.36	16.56
Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folata				
25.17	35.10	15.89	12.58	11.26
Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija				
0.00	0.00	8.61	41.72	49.67
Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje				
62.91	22.52	11.26	2.65	0.00
Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva				
34.44	31.79	19.87	11.26	2.65
Nije obaveza farmaceuta i farmaceutskih tehničara da savetuju žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija				
30.46	33.77	25.17	7.95	1.99
Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno				
26.49	36.42	18.54	11.92	6.62
U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi				
11.92	11.92	16.56	39.74	19.87
Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti				
0.00	3.31	14.57	36.42	45.70

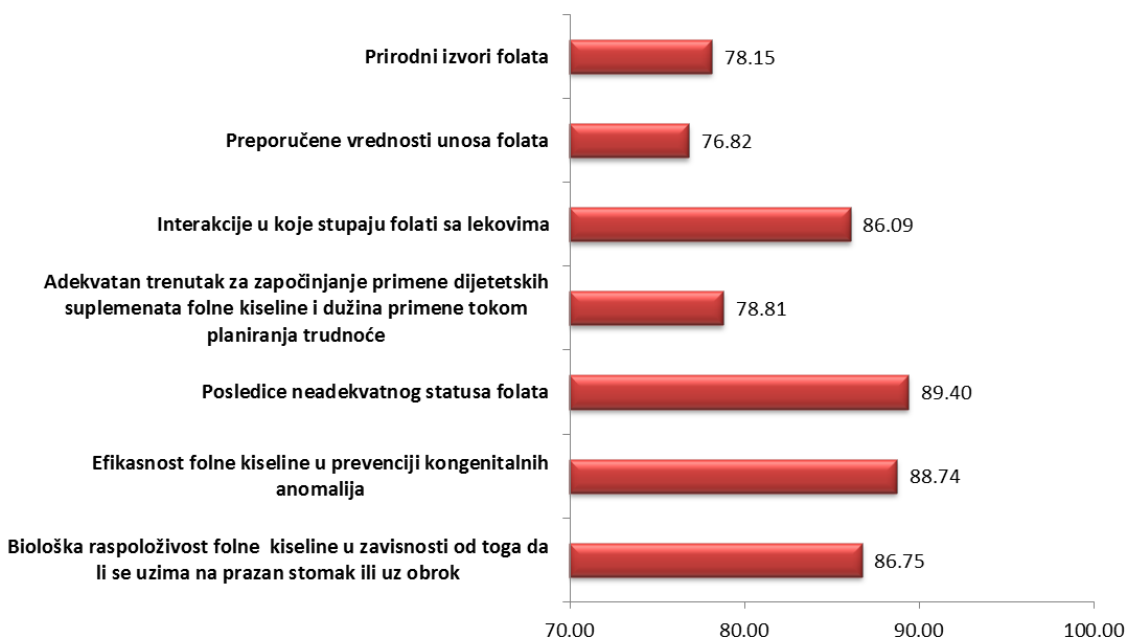
Prosečan skor na testu znanja u kohorti studenata završne godine Farmaceutskog fakulteta iznosio je 7.09 ± 2.03 , uz empirijski opseg od 2 do 12 poena. Ni kod jednog ispitanika nije zabeležen teorijski maksimalan broj poena na testu. Postignuća studenata završne godine nisu bila statistički značajno različita u odnosu na rezultate farmaceuta stažera iz prethodno opisane studijske kohorte ($p > 0.05$). Najveći broj ispitanika dao je tačan odgovor na 7 od 13 pitanja, a raspodela studenata prema skor na testu znanja data je na Slici 24.

Od 143 studenta koji su prepoznali defekte nervne cevi kao vrstu deformiteta koji se može prevenirati adekvatnom primenom folne kiseline, 64.3% je tačno identifikovalo i preporučenu dnevnu dozu za žene reproduktivne dobi. Preostali studenti, koji su predstavljali približno jednu trećinu kompletnog uzorka, najčešće su među ponuđenim odgovorima birali odgovarajuću numeričku vrednost, ali uz pogrešnu jedinicu (mg vs. μ g), što je ukazalo na veoma snažan efekat tzv. distraktora odnosno pogrešnih alternativa. Analizom rezultata utvrđeni su propusti u znanju kada je reč o specifičnim preporukama za unos folata. Naime, tek nešto više od polovine ispitanika (51.7%) je znalo kakav vremenski okvir primene folne kiseline obezbeđuje optimalnu prevenciju razvoja kongenitalnih anomalija, dok je svega 17.2 % prepoznalo preporučenu vrednost unosa za prevenciju rekurencije defekata nervne cevi. Dobre dijetarne izvore folata tačno je identifikovalo dve trećine ispitanih studenata, ali je samo 24.5% pokazalo znanje o razlikama u biološkoj raspoloživosti između prirodnih vitamina i sintetskog oblika vitamina.

Kao glavne izvore informacija o folatima, studenti su najčešće navodili predavanja na fakultetu (92.1%), sajtove relevantnih institucija (domaćih i međunarodnih) (77.5%), stručne knjige i časopise (70.9%) i sredstva javnog informisanja (televizija, štampa, radio) (59.9%). Od studenta koji su učestvovali u istraživanju, 129 je izrazilo zainteresovanost za dobijanje dodatnih informacija o folatima. Kada su ispitanici podeljeni u kvartile prema ostvarenom rezultatu na testu znanja, nije utvrđena statistički značajna razlika po tom pitanju ($p > 0.05$). Distribucija ispitanika (%) po tematskim oblastima za koje su izrazili posebno interesovanje data je na Slici 25.



Slika 24. Distibucija studenata farmacije po broju tačnih odgovora na testu znanja



Slika 25. Zainteresovanost studenata za dodatnu edukaciju o folatima: prikaz po tematskim oblastima (%)

4.3 Rezultati studije intervencije

4.3.1 Struktura uzorka: karakteristike ispitanika iz eksperimentalne i kontrolne grupe

Tokom regrutacionog perioda zainteresovanost za učešće u studiji ispoljilo je ukupno 187 farmaceuta i farmaceutska tehničara i za njih je ispitana podobnost za učešće u istraživanju u odnosu na unapred definisane kriterijume za uključivanje i isključivanje. Iz inicijalne kohorte eliminisani su oni članovi farmaceutskog tima koji nisu zadovoljili navedene uslove (n=3), a nakon toga je izvršena randomizacija ispitanika u eksperimentalnu i kontrolnu grupu. Iz procedure su izuzeti oni ispitanici koji nisu popunili sve upitnike predviđene planom studije tj. oni kod kojih je izostao posttest1 ili posttest 2 u eksperimentalnoj grupi, odnosno posttest u kontrolnoj grupi (n=9).

Nakon detaljne provere kompletnosti upitnika, iz dalje analize su isključeni oni kod kojih je utvrđen nedostatak informacija koje se odnose na glavne istraživačke varijable (n=6), tako da je finalna analitička kohorta obuhvatila ukupno 166 ispitanika i to 85 u kontrolnoj grupi i 81 u eksperimentalnoj (test) grupi.

Sprovedene analize (Chi-kvadrat test za kategoričke varijable odnosno t-test nezavisnih uzoraka za kontinuirane varijable) su potvrdile komparabilnost strukture eksperimentalne i kontrolne grupe odnosno odsustvo statistički značajnih razlika između ovih grupa u odnosu na sociodemografske i determinante profesionalnog profila ($p > 0.05$ za sve kriterijume) (Tabela 25).

Tabela 25. Struktura uzorka prema sociodemografskim karakteristikama i parametrima profesionalnog profila: komparabilnost eksperimentalne i kontrolne grupe

Sociodemografske karakteristike i parametri profesionalnog profila		Struktura uzorka			Analiza značajnosti razlika između grupa
		Eksperimentalna grupa n=85	Kontrolna grupa n=81	Kompletan uzorak n=166	
Pol	Žene	66 (77.6%)	65 (80.2%)	131 (78.9%)	$\chi^2 (1)=0.168, p=0.702$
	Muškarci	19 (22.4%)	16 (19.8%)	35 (21.1%)	
Profesionalni status	Farmaceut sa licencom	48 (56.5%)	44 (54.3%)	92 (55.4%)	$\chi^2 (1)=1.179, p=0.555$
	farmaceutski tehničar	37 (43.5%)	37 (45.7%)	74 (44.6%)	
Bračni status	neudata/neoženjen	24 (28.2%)	31 (38.3%)	55 (33.1%)	$\chi^2 (5)=5.965, p=0.310$
	udata/oženjen	36 (42.4%)	34 (41.9%)	70 (42.2%)	
	udovica/udovac	1 (1.2%)	0 (0.0%)	1 (0.6%)	
	razvedena/razveden	8 (9.4%)	4 (4.9%)	12 (7.2%)	
	živi sa partnerom	14 (16.5%)	12 (14.8%)	26 (15.7%)	
	Drugo	2 (2.4%)	0 (0.0%)	2 (1.2%)	
Deca	Da	49 (57.6%)	40 (49.4%)	89 (53.6%)	$\chi^2 (1)=1.139, p=0.181$
	Ne	36 (42.2%)	41 (50.6%)	77 (46.4%)	
Najviši stepen formalnog obrazovanja	Srednja stručna sprema	44 (51.8%)	37 (45.7%)	81 (48.8%)	$\chi^2 (4)=1.578, p=0.813$
	Fakultetsko obrazovanje	30 (35.3%)	31 (38.3%)	61 (36.7%)	
	Specijalističke akademske studije	8 (9.4%)	10 (12.3%)	18 (10.8%)	
	Specijalističke studije za potrebe zdravstva	2 (2.4%)	2 (2.5%)	4 (2.4%)	
	Doktorske akademske studije	1 (1.2%)	1 (1.2%)	2 (1.2%)	
Starost	$\bar{x} \pm SD$	37.18 ± 9.89	34.75 ± 8.95	35.99 ± 9.49	$t(164)=1.653, p=0.100$
Radni staž u apotekarskoj praksi	$\bar{x} \pm SD$	13.30 ± 9.75	10.95 ± 8.82	12.15 ± 9.30	$t(164)=0.783, p=0.435$
Broj dece	$\bar{x} \pm SD$	0.93 ± 0.94	0.81 ± 0.95	0.87 ± 0.94	$t(164)=1.626, p=0.164$

4.3.2 Komparativna analiza znanja o folatima između eksperimentalne i kontrolne grupe i evaluacija promena u znanju u funkciji edukativne intervencije

Prosečan skor ostvaren na testu znanja na nivou pretesta tj. iznosio je 6.54 ± 2.11 poena u eksperimentalnoj grupi, odnosno 6.65 ± 1.98 poena u kontrolnoj grupi. Empirijski opseg broja tačnih odgovora bio je 2-11 poena u obe grupe. Nije utvrđena statistički značajna razlika u znanju o folatima između dve analizirane grupe u početnoj tački studije: $t(164)=0.356$, $p=0.722$. Odsustvo razlika u inicijalnom znanju potvrđena je i na nivou profesionalnih grupa u okviru farmaceutskog tima tj. za farmaceute (eksp. grupa: 7.07 ± 1.98 vs. kont. grupa: 7.23 ± 1.85 , $t(94)=0.476$, $p=0.637$) i farmaceutske tehničare (eksp. grupa: 5.89 ± 2.13 vs. kont. grupa: 6.02 ± 1.95 , $t(72)=0.284$, $p=0.777$).

S ciljem ispitivanja eventualne promene u postignućima na testu znanja u okviru eksperimentalne grupe u kojoj je implementirana intervencija – namenski kreiran edukativni program, primenjen je t-test uparenih uzoraka. Analiza je nedvosmisleno pokazala statistički značajno unapređenje rezultata na nivou ukupnog skora (pretest: 6.54 ± 2.11 vs. posttest 1: 11.39 ± 1.48 , $t(83)=25.955$, $p<0.001$). Takav nalaz registrovan je kako za kompletnu eksperimentalnu grupu, tako i na nivou svakog od četiri regiona u kojima su zasebno održani programi edukacije (Tabela 26).

Tabela 26. Ispitivanje promene postignuća na testu znanja neposredno nakon edukativnog programa kod ispitanika eksperimentalne grupe

	Broj ispitanika (n)	Skor na testu znanja ($\bar{x} \pm SD$)		Analiza značajnosti razlike u postignuću nakon edukacije	
		Pretest	Posttest 1	t	p
Eksperimentalna grupa - kompletan uzorak	85	6.54 ± 2.11	11.39 ± 1.48	25.955	$p<0.001$
Eksperimentalna grupa – Vojvodina	20	6.95 ± 1.73	11.60 ± 1.31	15.888	$p<0.001$
Eksperimentalna grupa – Beograd	26	6.15 ± 1.97	11.62 ± 1.24	15.523	$p<0.001$
Eksperimentalna grupa - Centralna i zapadna Srbija	19	6.79 ± 2.17	11.37 ± 1.89	11.253	$p<0.001$
Eksperimentalna grupa - Južna i istočna Srbija	20	6.40 ± 2.58	10.90 ± 1.48	10.88	$p<0.001$

Nakon što je potvrđena kratkoročna uspešnost edukativnog programa na unapređenje znanja ispitanika o ulozi, izvorima, biološkom značaju folata i primeni folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda, ispitano je da li su nove informacije bolje usvajali farmaceuti ili farmaceutski tehničari. Izračunata je prosečna razlika u skorovima na testu znanja između posttest-a 1 i pretesta (tj. skor napretka) za ove dve grupe zdravstvenih profesionalaca iz javnih apoteka zasebno ($D_{10eks-farmaceuti}$ i $D_{10eks-farmaceutski\ tehničari}$) i primenjen je t-test za nezavisne uzorke. Iako su farmaceuti i pre i posle edukacije ostvarivali bolje rezultate u odnosu na farmaceutske tehničare, nije utvrđena statistički značajna razlika na nivou skora napretka, odnosno, edukativna intervencija je u obe grupe bila podjednako efikasna u unapređenju znanja (Tabela 27).

Tabela 27. Evaluacija skora napretka u znanju o folatima nakon edukacionog programa: prikaz za farmaceute i farmaceutske tehničare iz eksperimentalne grupe

	Broj ispitanika (n)	Farmaceuti		Farmaceutski tehničari		Analiza značajnosti razlike u skorovima napretka između grupa
		n	Skor napretka na testu znanja ($\bar{x} \pm SD$)	N	Skor napretka na testu znanja ($\bar{x} \pm SD$)	
Eksperimentalna grupa - kompletan uzorak	85	48	5.08±1.76	37	4.54±1.64	t(83)=1.450, p=0.151
Eksperimentalna grupa – Vojvodina	20	12	4.92±1.44	8	4.25±1.03	t(18)=1.124, p=0.276
Eksperimentalna grupa – Beograd	26	15	6.00±1.88	11	4.73±1.42	t(24)=1.875, p=0.073
Eksperimentalna grupa - Centralna i zapadna Srbija	19	10	4.50±1.35	9	4.66±2.24	t(17)=0.199, p=0.845
Eksperimentalna grupa - Južna i istočna Srbija	20	11	4.54±1.92	9	4.44±1.82	t(18)=0.118, p=0.907

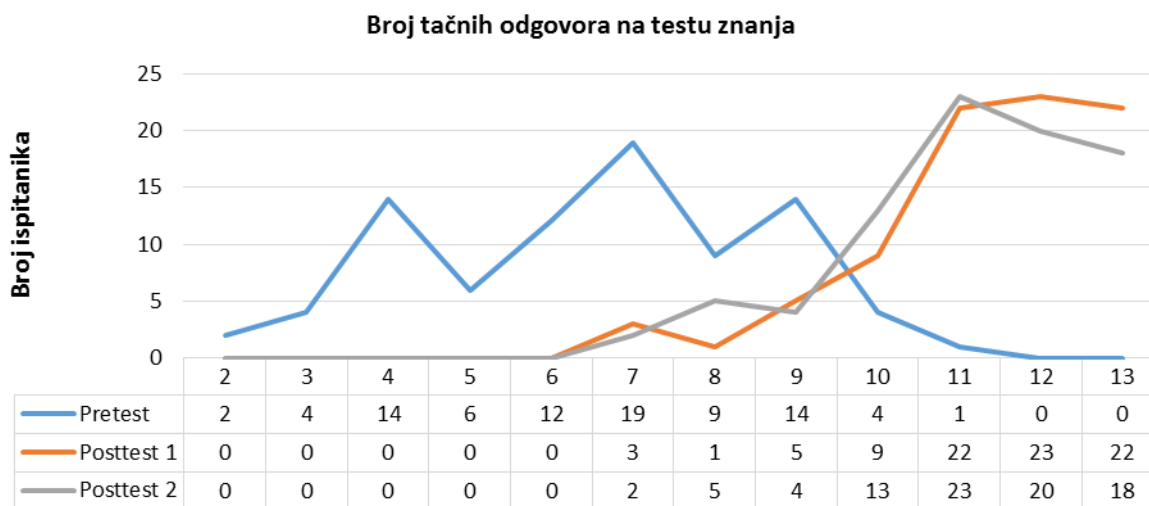
S ciljem ispitivanja uspešnosti zadržavanja stečenog znanja u funkciji vremena, u okviru eksperimentalne grupe su poređeni rezultati ostvareni na neposrednom i naknadnom posttestu (posttest 1 i posttest 2) primenom t-testa za uparene uzorke. Utvrđeno je da nema statistički značajne razlike na nivou kompletne eksperimentalne kohorte, iako su rezultati na neposrednom posttestu bili nešto viši u odnosu na rezultate ispitivanja nakon mesec dana (11.39 ± 1.48 vs. 11.14 ± 1.53 , $t(83)=3.019$, $p>0.05$). Postojala je marginalna statistički značajna razlika razlika na nivou jednog od regiona (Južna i istočna Srbija: 10.90 ± 1.48

vs. 10.30 ± 1.42 , $t(18)=2.343$, $p<0.05$), ali ne i na nivou ostalih stratuma definisanih na osnovu geografskog kriterijuma ili po polu ($p>0.05$) (Tabela 28).

Tabela 28. Evaluacija razlika u postignućima na testu znanja u okviru eksperimentalne grupe na nivou neposrednog i naknadnog posttesta

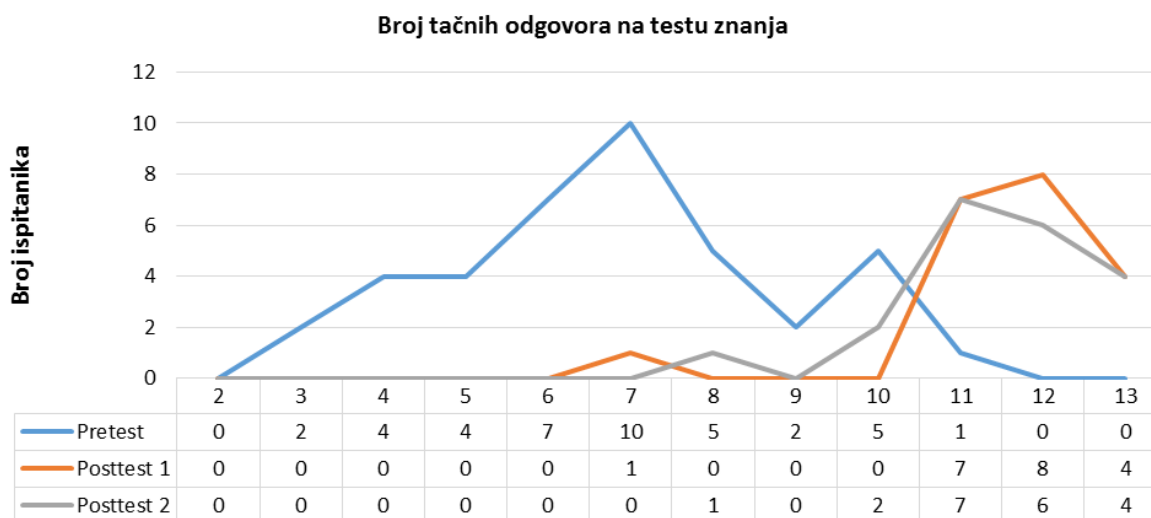
	Broj ispitanika (n)	Skor na testu znanja ($\bar{x} \pm SD$)		Analiza značajnosti razlike u postignuću na neposrednom i naknadnom testu znanja	
		Posttest 1	Posttest 2	t	p
Eksperimentalna grupa - kompletan uzorak	85	11.39±1.48	11.14±1.53	3.019	0.073
Eksperimentalna grupa – Vojvodina	20	11.60±1.31	11.45±1.23	1.143	0.267
Eksperimentalna grupa – Beograd	26	11.62±1.23	11.50±1.24	1.140	0.268
Eksperimentalna grupa - Centralna i zapadna Srbija	19	11.36±1.89	11.21±1.99	1.143	0.268
Eksperimentalna grupa - Južna i istočna Srbija	20	10.90±1.48	10.30±1.42	2.343*	0.030
Eksperimentalna grupa – muškarci	19	11.10±1.91	10.78±1.81	1.837	0.078
Eksperimentalna grupa - žene	66	11.47±1.33	11.24±1.43	0.227	0.083

Empirijski opseg skora na testu znanja u eksperimentalnoj grupi neposredno nakon edukacije (posttest 1) bio je od 7 do 13 poena. Na pretestu je najveći broj ispitanika tačno odgovorio na 7 pitanja, čak 38 je imalo slabiji skor, a nijedan ispitanik nije tačno odgovorio na sva pitanja. Neposredno po završetku edukacionog programa, na posttestu 1, farmaceuti i farmaceutski tehničari su dominantno ostvarivali 11, 12 i maksimalnih 13 poena (22,23 i 22 ispitanika, redom) i svi su tačno odgovorili na više od 50% pitanja. Slični su bili i rezultati posttesta 2, nakon mesec dana, što ukazuje na visoku stopu retencije znanja u funkciji vremena. Naime, iako je bio nešto manji broj ispitanika sa teoretskim maksimumom ostvarenih poena na testu znanja u odnosu na posttest 2 (18 vs. 22 ispitanika), i dalje su dominirali visoki skorovi i odsustvo ispodpolovičnih postignuća (tj. skor <7 poena). Distribucija članova farmaceutskog tima na osnovu ostvarenog broja tačnih odgovora u prvoj tački studije, neposredno nakon edukacione intervencije i posle mesec dana data je na Slici 26.

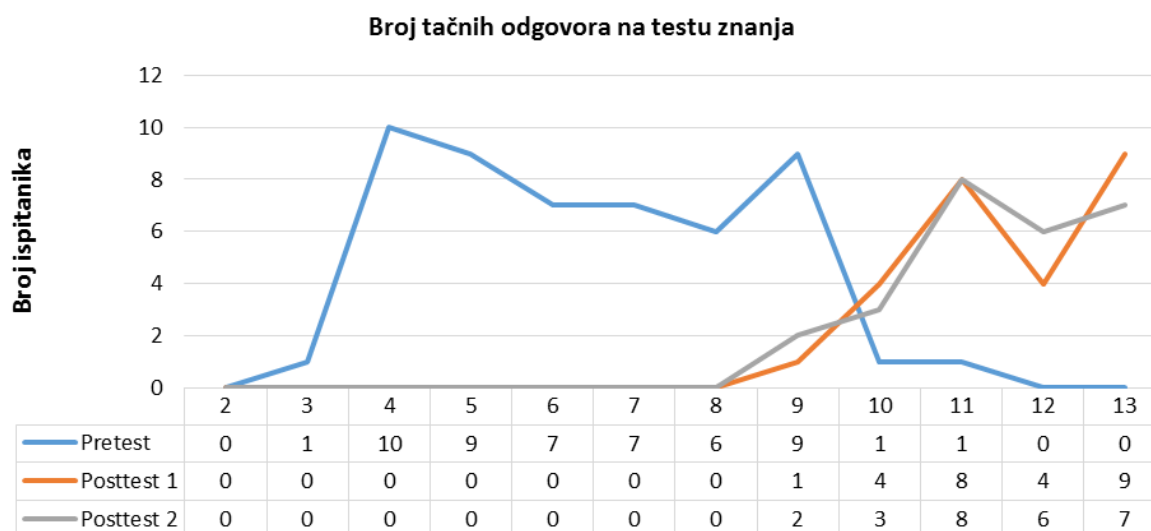


Slika 26. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

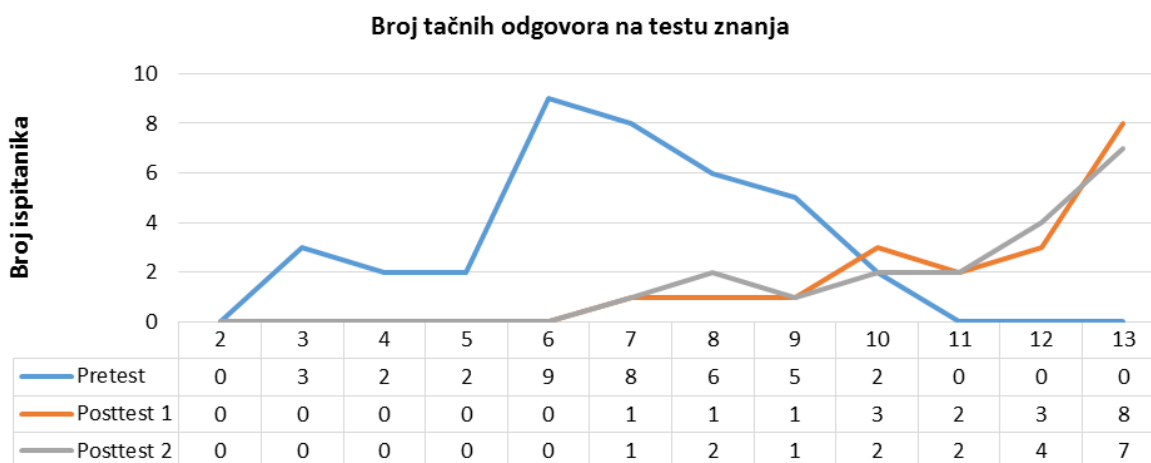
Slični rezultati su dobijeni i na nivou specifičnih regiona. U Vojvodini je na nivou pretesta dominantan broj tačnih odgovora bio 7, pri čemu je 17 ispitanika imalo slabije postignuće. Po završetku namenski kreiranog edukacionog programa, samo 1 ispitanik je imao 7 tačnih odgovora dok su svi ostali imali od 11 do 13. Na nivou posttesta 2 registrovan je tek zanemarljiv pad u znanju (Slika 27). U grupi farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz Beograda na pretestu su se izdvojile dve grupe ispitanika, čija su se postignuća grupisala oko 4 i oko 9 tačnih odgovora. Nijedan ispitanik nije ostvario 12 ili 13 poena, a samo 1 je imao 11 poena. Na neposrednom i naknadnom posttestu uočeno je značajno poboljšanje znanja o folatima i primeni folne kiseline u perikonceptijskom periodu. Naime, preko 80% članova farmaceutskog tima je imalo 11 ili više tačnih odgovora, a nijedan ispod 9 (Slika 28). U Centralnoj i zapadnoj Srbiji ispitanici su na nivou pretesta pretežno ostvarivali 6 ili 7 poena, dok su na oba posttesta dominantna bila maksimalna postignuća (Slika 29). I u Južnoj i istočnoj Srbiji je na nivou oba posttesta zabeleženo unapređenje ostvarenih skorova: neposredno nakon edukacije ostvaren je teorijski maksimum od 13 poena, a nakon mesec dana najviše je bilo rezultata sa 10-12 tačnih odgovora (Slika 30)



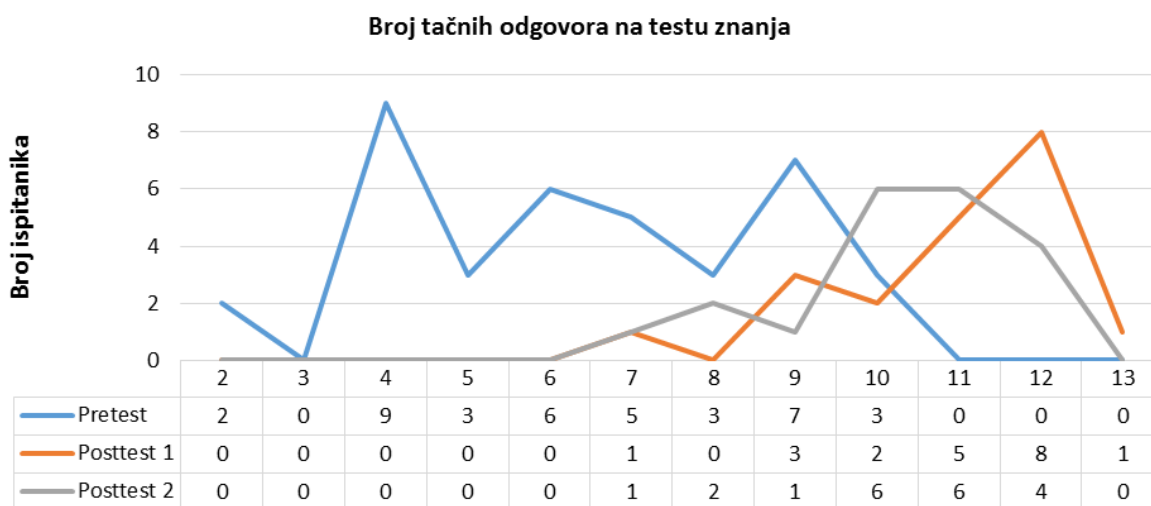
Slika 27. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz regiona Vojvodina na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)



Slika 28. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Beograda na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)



Slika 29. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Centralne i zapadne Srbije na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)



Slika 30. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Južne i istočne Srbije na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Da bi se utvrdilo da li je došlo do promena u nivou znanja o folatima u okviru kontrolne grupe tj. među ispitanicima koji nisu bili podvrgnuti edukacionoj intervenciji primenjen je t-test uparenih uzoraka. Tokom perioda od mesec dana znanje farmaceuta i farmaceutskih tehničara se neznatno unapredilo: viši skorovi na posttestu su registrovani za

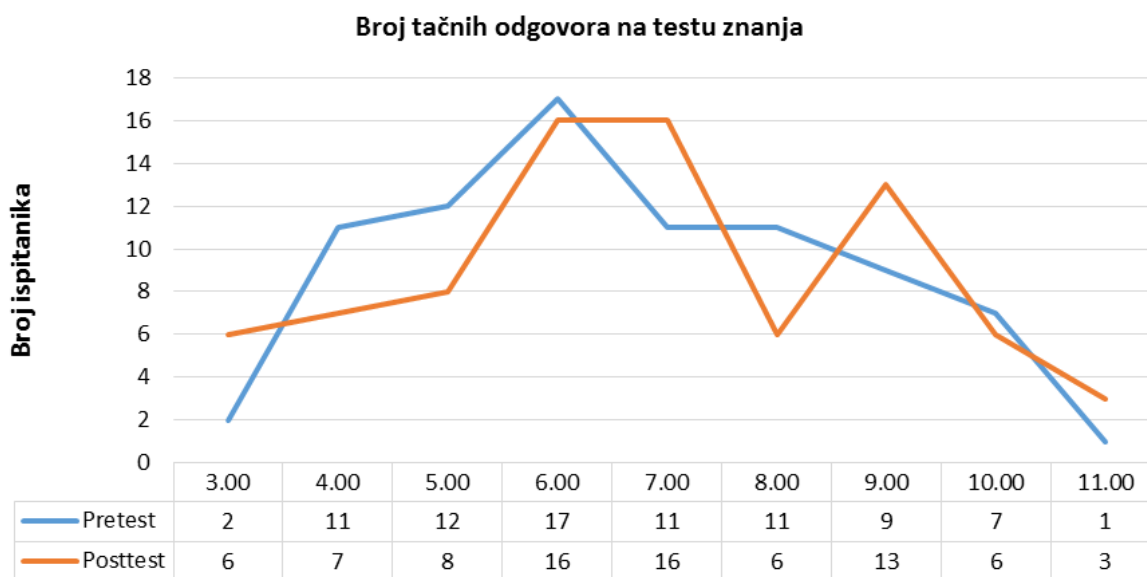
kompletnu kontrolnu kohortu i parcijalno, po geografskim stratumima, ali, ta promena nigde nije dostigla nivo statističke značajnosti (Tabela 29).

Tabela 29. Evaluacija razlika u postignućima na testu znanja u okviru kontrolne grupe na nivou pretesta i posttesta

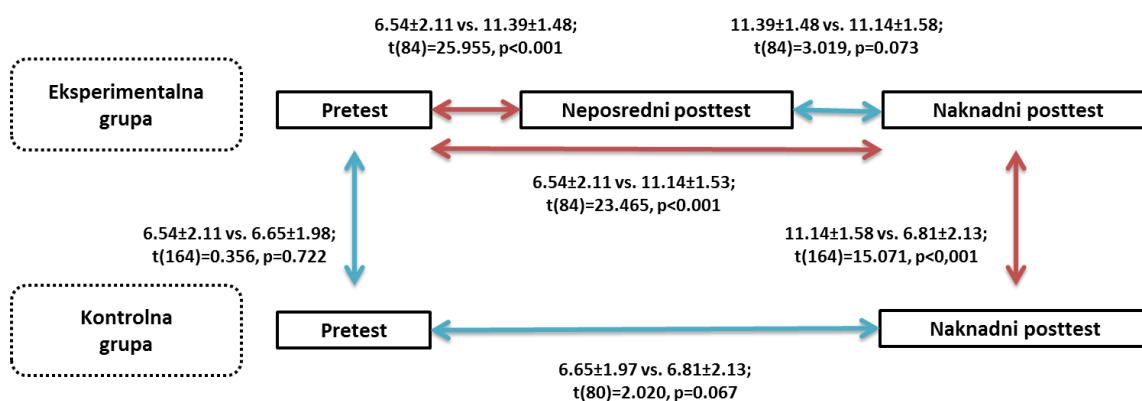
	Broj ispitanika (n)	Skor na testu znanja ($\bar{x} \pm SD$)		Analiza značajnosti razlike u postignuću nakon mesec dana
		Pretest	Posttest	
Kontrolna grupa - kompletan uzorak	81	6.65±1.97	6.81±2.13	t(80)=2.020, p=0.067
Kontrolna grupa - Vojvodina	20	6.70±2.36	6.85±2.64	t(19)=1.000, p=0.330
Kontrolna grupa - Beograd	25	6.76±2.03	6.96±2.05	t(24)=1.225, p=0.233
Kontrolna grupa - Centralna i zapadna Srbija	18	6.72±1.53	6.88±1.67	t(17)=1.000, p=0.331
Kontrolna grupa - Južna i istočna Srbija	18	6.39±1.97	6.50±2.17	t(17)=0.697, p=0.495

Distribucija ispitanika kontrolne grupe na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest) i nakon mesec dana (posttest) prikazana je na slici 31.

U završnoj tački studije je utvrđena statistički značajna razlika u znanju između farmaceuta i farmaceutskih tehničara koji su bili deo eksperimentalne grupe u odnosu na njihove kolege koje nisu bile izložene edukativnoj intervenciji: 11.14±1.58 vs. 6.81±2.13; t(164)=15.071, p<0,001. Šematski prikaz komparativne analize znanja o folatima između eksperimentalne i kontrolne grupe i evaluacija promena u znanju u funkciji edukativne intervencije dati su na Slici 32.

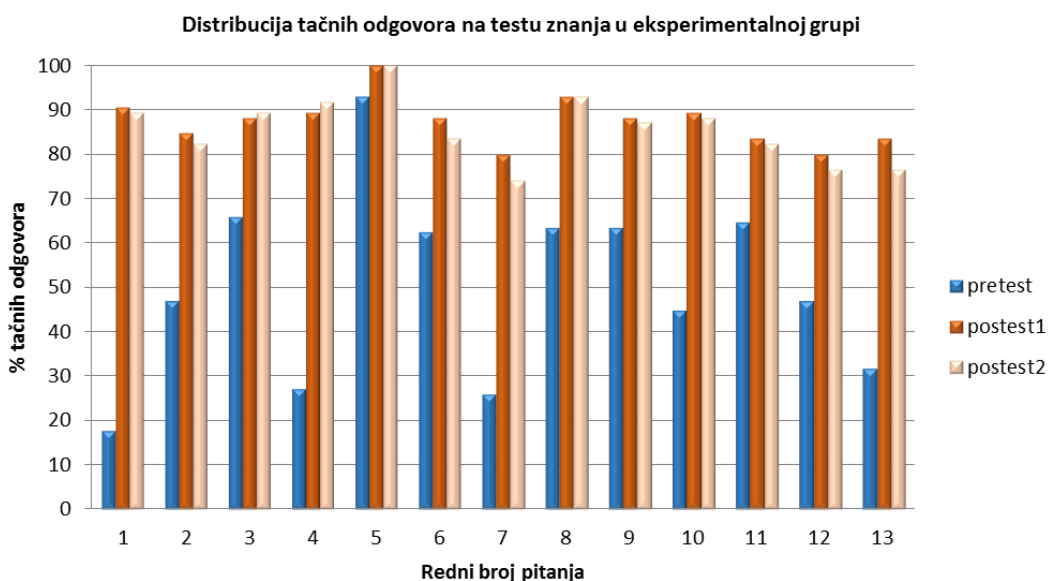


Slika 31. Distribucija ispitanika kontrolne grupe na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest) i nakon mesec dana (posttest)

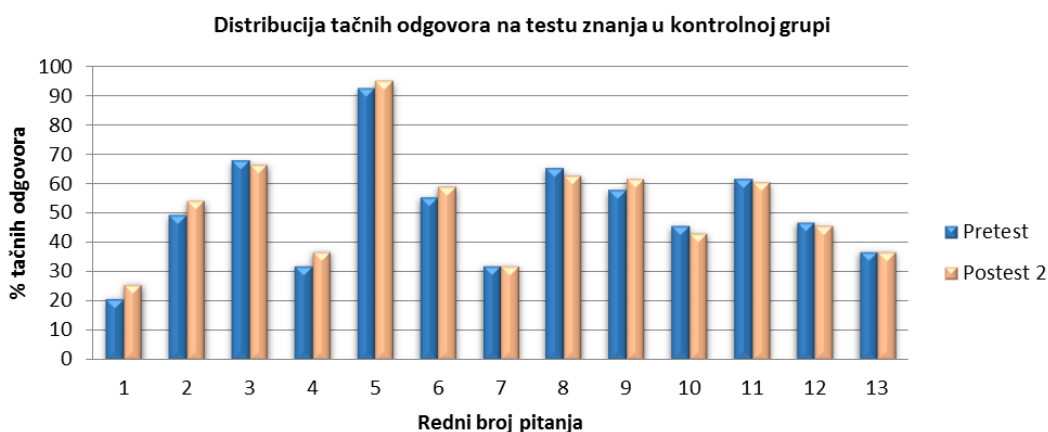


Slika 32. Šematski prikaz komparativne analize znanja o folatima između eksperimentalne i kontrolne grupe i evaluacija promena u znanju u funkciji edukativne intervencije

Grafički prikaz distribucije frekvence tačnih odgovora na nivou pojedinačnih pitanja u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi od početne do završne tačke studije dat je na slikama 33 i 34.



Slika 33. Distribucija frekvence tačnih odgovora na nivou pojedinačnih pitanja u okviru eksperimentalne grupe



Slika 34. Distribucija frekvence tačnih odgovora na nivou pojedinačnih pitanja u okviru kontrolne grupe

S ciljem ispitivanja veličine efekta edukacione intervencije, kao praktični pokazatelj izvedenih rezultata izračunato je Koenovo d veličine efekta (*Cohen's d*), pri čemu je u kalkulaciji primenjena specifična formula za pretest-posttest eksperimentalni dizajn sa kontrolnom grupom. Uključivanjem podataka o ostvarenim skorovima na testu znanja u eksperimentalnoj i kontrolnoj grupi u početnoj i završnoj tački studije (eksperimentalna grupa ($n=85$): 6.54 ± 2.11 vs. 11.14 ± 1.53 ; kontrolna grupa ($n=81$): 6.65 ± 1.97 vs. 6.81 ± 2.13) dobijena je vrednost $d_{ppk} = 2.292$. Ovakav rezultat, na osnovu Koenove konvencije, upućuje

na veliki efekat primenjene intervencije tj. edukativnog programa ($d_{ppk} > 0.8$). Magnituda efekta edukacije je ispitana i na nivou same eksperimentalne grupe primenom formule za Koenovo d u studijama ponovljenih merenja. Koenovo d na nivou neposrednog posttesta je iznosilo $d_{posttest1} = 2.549$ ($t_{c2} = 25.955$, $n = 85$, $r_2 = 0.590$), a kada su u kalkulaciju implementirani rezultati pretesta i naknadnog posttesta dobijena je vrednost $d_{posttest2} = 2.423$ ($t_{c2} = 23.465$, $n = 85$, $r_2 = 0.547$). U oba slučaja potvrđen je veliki efekat sprovedene edukacije na postignuća farmaceuta i farmaceutskih tehničara na testu znanja o folatima.

Jednofaktorskom analizom varijanse ponovljenih merenja sprovedena je sveobuhvatna procena uticaja edukacionog programa na performanse ispitanika iz eksperimentalne grupe na testu znanja o folatima evaluacijom promena u funkciji vremena. Za rezultate generisane u tri tačke ponovljenih merenja (pretest, posttest 1 i posttest 2) utvrđen je statistički značajan efekat intervencije: Wilks' lambda = 0.111, $F(2,83) = 332.878$, $p < 0.001$ uz multivarijaciono parcijalno eta kvadrat $\eta^2 = 0.889$ koje potvrđuje veliki efekat.

Jednofaktorskom analizom kovarijanse ispitan je uticaj nezavisne, grupišuće varijable (pripadnost eksperimentalnoj ili kontrolnoj grupi) na zavisnu, ishodnu-rezultujuću varijablu (vrednost skora na testu znanja u završnoj tački studije) uz kontrolu uticaja kovarijata (postignuća na testu znanja u početnoj tački studije). Preliminarnim proverama je odbačena mogućnost narušavanja osnovnih pretpostavki modela (detaljnije opisano u poglavlju 3.3.4) i utvrđeno je da između ispitanika iz kontrolne i eksperimentalne grupe postoji statistički značajna razlika u znanju o folatima na naknadnom posttestu, kada se statistički ukloni uticaj skora na pretestu ($F(1,165) = 536.33$, $p < 0.001$). Veličina uticaja, opisana kroz parcijalni eta kvadrat iznosi $\eta^2 = 0.767$. To praktično znači da 76.7% varijanse skora na finalnom testu znanja objašnjava pripadnost kontrolnoj ili eksperimentalnoj grupi (odnosno izloženost edukacionoj intervenciji). Ispitan je i uticaj kovarijata, odnosno znanja demonstriranih na pretestu i utvrđeno je da je efekat ove varijable, kada se ukloni uticaj nezavisne grupišuće varijable takođe statistički značajan ($F(1,165) = 211.15$, $p < 0.001$). Veličina uticaja inicijalnog znanja ispitanika na rezultate testa u završnoj tački bila je 0.464, odnosno može objasniti 46.4% varijanse posttesta znanja.

4.3.3 Komparativna analiza stavova o savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata između eksperimentalne i kontrolne grupe farmaceuta i farmaceutskih tehničara

S ciljem ispitivanja razlika u stavovima kontrolne i eksperimentalne grupe zabeleženih na nivou pretesta, tj. u početnoj tački studije (eng. *baseline*), izvršena je linearizacija ocena sa Likertove skale kojom je operacionalizovan stepen slaganja sa izjavama u upitniku i primenjen je t-test za nezavisne uzorke. Na osnovu rezultata prezentovanih u Tabeli 30 može se videti da ne postoje statistički značajne razlike u stavovima između ove dve grupe ispitanika. Na taj način je, uz prethodno predstavljene dokaze o odsustvu statistički značajnih razlika između grupa na nivou sociodemografsko-profesionalne strukture i znanja o folatima potvrđena dobra ujednačenost grupa u početnoj tački studije i uspešnost procesa randomizacije.

Nakon sprovedene edukacije evaluirane su promene u prosečnim skorovima na nivou pojedinačnih stavova u okviru eksperimentalne grupe primenom t-testa za uparene (zavisne) uzorke i zabeležene su statistički značajne promene gotovo svih stavova (Tabela 31). Te promene su dominantno podrazumevale intenziviranje percepcije važnosti primene dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda (stavovi 1 i 8), viši nivo prihvatanja sopstvene uloge u promociji reproduktivnog zdravlja i edukaciji žena o folatima (stavovi 6,11,12,13 i 14), bolje sagledavanje razmera javnozdravstvenog problema koji predstavljaju kongenitalne anomalije u kontekstu kliničkih, ekonomskih i humanističkih determinanti (stavovi 4 i 9) i prepoznavanje izazova ostvarivanja odgovarajućeg obuhvata pripadnica populacije od interesa (stavovi 2,5 i 7). Nastale promene u stavovima ispitanika eksperimentalne grupe ostale su prilično konstantne do naknadnog posttesta tj. završne tačke studije. Naime, registrovane su promene stavova za samo dve tvrdnje iz upitnika. Pored dodatno osnaženog afirmativnog stava prema korisnosti perikonceptijske suplementacije folnom kiselinom (stav 1), zanimljivo je da je statistički značajna razlika utvrđena na nivou stava: *Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva*. Naime, kod farmaceuta i farmaceutskih tehničara se tokom mesec

dana između edukacionog programa i posttesta 2 značajno redukovao stepen slaganja sa ovom tvrdnjom. Na istu promenu je ukazala i analiza stavova članova farmaceutske grupe koji su bili lišeni edukacione intervencije. Pored ove promene, u kontrolnoj grupi je, nakon suočavanja sa testom za procenu znanja, zabeleženo i statistički značajno smanjenje stepena slaganja sa tvrdnjom da *farmaceuti i farmaceutski tehničari raspoložu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi*. Dodatno, suprotno kolegama iz eksperimentalne kohorte, kod farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz kontrolne grupe je tokom trajanja studije intenziviran osećaj neprijatnosti pri iniciranju razgovora o defektima nervne cevi sa pacijentkinjama u javnim apotekama.

Komparativna analiza stavova ispitanika iz eksperimentalne i kontrolne grupe u završnoj tački studije primenom t-testa za nezavisne uzorke ukazala je na statistički značajne razlike za 7 od 14 tvrdnji iz upitnika (Tabela 32). Ispitanici iz eksperimentalne grupe su imali više izražen stepen slaganja sa tvrdnjama o značaju folne kiseline u kontekstu obezbeđivanja zdravog potomstva, intenzivniju percepciju važnosti edukacije žena o ovoj temi i više izraženo samopouzdanje po pitanju posedovanja znanja neophodnih za kvalitetno i efikasno zdravstveno prosvetovanje u javnim apotekama. Kod farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz kontrolne grupe više je bio izražen stav da samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline, kao i uverenje da informacije o ovoj treba davati isključivo na zahtev/pitanje pacijenata, a ne samoinicijativno. Distribucija stavova ispitanika za iskaze iz upitnika za koje je u završnoj tački studije utvrđena statistički značajna razlika između eksperimentalne i kontrolne grupe predstavljena je u Tabeli 33.

Tabela 30. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima između eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije (pretest rezultati)

	Stav	Eksperimentalna grupa (n=85)	Kontrolna grupa (n=81)	Analiza razlika u prosečnim skorovima po stavu između grupa na nivou pretesta	
		Pretest $\bar{x}\pm SD$	Pretest $\bar{x}\pm SD$	t	p
1	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva	3.28±0.82	3.70±0.94	0.876	0.382
2	Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline	3.34±1.20	3.33±1.40	0.039	0.969
3	Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi	3.74±0.66	3.59±0.67	1.446	0.151
4	Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta	4.08±0.92	3.84±0.97	1.668	0.099
5	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće	3.01±1.26	3.02±1.351	0.064	0.949
6	Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija	4.11±0.77	4.15±0.82	0.341	0.733
7	Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folata	2.18±0.77	2.05±0.59	1.186	0.237
8	Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija	4.41±0.62	4.41±0.76	0.069	0.945
9	Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje	1.96±0.91	1.85±0.87	0.819	0.414
10	Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva	2.72±1.04	2.58±1.13	0.816	0.416
11	Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija	2.52±1.13	2.53±1.21	0.949	0.344
12	Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno	2.75±1.19	2.73±1.24	0.13	0.897
13	U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi	2.75±1.29	2.91±1.32	0.791	0.43
14	Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti	4.35±0.78	4.47±0.82	0.933	140.352

Tabela 31. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima u okviru eksperimentalne grupe u početnoj tački studije, neposredno nakon edukacije i posle mesec dana, kao i u kontrolnoj grupi na nivou pretest i posttest rezultata

Stav	Eksperimentalna grupa			Analiza razlika u prosečnim skorovima u okviru eksperimentalne grupe između pretesta i neposrednog posttesta		Analiza razlika u prosečnim skorovima u okviru eksperimentalne grupe između neposrednog i naknadnog posttesta		Kontrolna grupa		Analiza razlika u prosečnim skorovima u okviru kontrolne grupe između pretesta i naknadnog posttesta	
	Pretest $\bar{x}\pm SD$	Posttest 1 $\bar{x}\pm SD$	Posttest 2 $\bar{x}\pm SD$	t	p	t	p	Pretest $\bar{x}\pm SD$	Posttest $\bar{x}\pm SD$	t	p
Stav 1	3.28±0.82	4.39±0.64	4.52±0.57	6.968***	<0.001	2.771**	0.007	3.70±0.94	3.89±0.81	2.714**	0.008
Stav 2	3.34±1.20	2.58±1.04	2.54±0.85	7.762***	<0.001	0.575	0.567	3.33±1.40	3.21±1.27	1.423	0.159
Stav 3	3.74±0.66	3.71±0.86	3.80±0.78	0.410	0.683	1.583	0.117	3.59±0.67	3.44±0.73	2.530*	0.013
Stav 4	4.08±0.92	4.45±0.61	4.49±0.59	5.474***	<0.001	1.070	0.288	3.84±0.97	3.93±0.89	2.158*	0.034
Stav 5	3.01±1.26	2.82±1.10	2.76±1.04	5.379***	<0.001	1.216	0.227	3.02±1.351	3.09±1.24	1.216	0.227
Stav 6	4.11±0.77	4.44±0.66	4.46±0.57	2.426*	0.017	0.532	0.596	4.15±0.82	4.21±0.72	1.685	0.096
Stav 7	2.18±0.77	2.02±0.71	2.00±0.74	2.694**	0.009	0.498	0.62	2.05±0.59	2.05±0.65	0.150	0.877
Stav 8	4.41±0.62	4.67±0.47	4.66±0.50	4.593***	<0.001	0.332	0.741	4.41±0.76	4.48±0.62	1.754	0.083
Stav 9	1.96±0.91	1.68±0.65	1.72±0.63	3.472***	<0.001	0.773	0.442	1.85±0.87	1.79±0.77	1.921	0.058
Stav 10	2.72±1.04	2.75±1.00	2.45±0.93	0.831	0.409	3.583**	0.001	2.58±1.13	2.72±0.96	2.588*	0.011
Stav 11	2.52±1.13	2.16±0.94	2.12±0.92	3.936***	<0.001	1.423	0.159	2.53±1.21	2.25±1.09	2.375*	0.02
Stav 12	2.75±1.19	2.12±0.96	2.07±0.86	5.799***	<0.001	1.000	0.320	2.73±1.24	2.67±1.23	1.216	0.227
Stav 13	2.75±1.29	2.58±1.14	2.49±1.07	3.022**	0.003	1.305	0.195	2.91±1.32	2.79±1.24	2.083*	0.040
Stav 14	4.35±0.78	4.56±0.61	4.58±0.61	3.497**	0.001	0.301	0.765	4.47±0.82	4.52±0.71	1.423	0.159

*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001

Tabela 32. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima između eksperimentalne i kontrolne grupe u završnoj tački studije (posttest rezultati)

		Eksperimentalna grupa (n=85)	Kontrolna grupa (n=81)	Analiza razlika u prosečnim skorovima po stavu između grupa na nivou posttesta	
	Stav	Posttest 2 $\bar{x} \pm SD$	Posttest $\bar{x} \pm SD$	t	p
1	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva	4.52±0.57	3.89±0.81	5.826***	<0.001
2	Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline	2.54±0.85	3.21±1.27	3.995***	<0.001
3	Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi	3.80±0.78	3.44±0.73	3.031**	0.003
4	Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta	4.49±0.59	3.93±0.89	4.864***	<0.001
5	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće	2.76±1.04	3.09±1.24	1.815	0.071
6	Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija	4.46±0.57	4.21±0.72	2.48*	0.014
7	Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folate	2.00±0.74	2.05±0.65	0.456	0.649
8	Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija	4.66±0.50	4.48±0.62	2.042*	0.043
9	Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje	1.72±0.63	1.79±0.77	0.666	0.507
10	Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva	2.45±0.93	2.42±0.96	0.186	0.853
11	Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija	2.12±0.92	2.25±1.09	0.828	0.409
12	Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno	2.07±0.86	2.67±1.23	0.648***	<0.001
13	U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi	2.49±1.07	2.79±1.24	1.651	0.101
14	Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti	4.58±0.61	4.52±0.71	0.567	0.571

Tabela 33. Distribucija frekvenci (%) odgovora ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe u završnoj tački studije za stavove za koje je utvrđena statistički značajna razlika između grupa

		Distribucija frekvenci (%) odgovora ispitanika				
		Uopšte se ne slažem (1)	Ne slažem se (2)	Neutralni stav(3)	Slažem se (4)	U potpunosti se slažem(5)
Stav 1	Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikoncepcijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva					
Eksperimentalna grupa	0.0	0.0	3.5	41.2	55.3	
Kontrolna grupa	0.0	3.7	27.2	45.7	23.5	
Stav 2	Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline					
Eksperimentalna grupa	11.8	34.1	42.4	1.8	0.0	
Kontrolna grupa	9.9	22.2	24.7	23.5	19.8	
Stav 3	Farmaceuti i farmaceutski tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi					
Eksperimentalna grupa	0	5.9	24.7	52.9	16.5	
Kontrolna grupa	0	8.6	43.2	43.2	4.9	
Stav 4	Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta					
Eksperimentalna grupa	0	0	4.7	41.2	54.1	
Kontrolna grupa	0	4.9	28.4	35.8	30.9	
Stav 6	Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija					
Eksperimentalna grupa	0	0	3.5	47.1	49.4	
Kontrolna grupa	0	0	17.3	44.4	38.3	
Stav 8	Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija					
Eksperimentalna grupa	0	0	1.2	31.8	67.1	
Kontrolna grupa	0	0	6.2	39.5	54.3	
Stav 12	Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno					
Eksperimentalna grupa	28.2	41.2	25.9	4.7	0	
Kontrolna grupa	22.2	24.7	22.2	25.9	4.9	

4.3.4 Savetodavna praksa farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz eksperimentalne i kontrolne grupe tokom intervencione studije

U početnoj tački studije nije utvrđena statistički značajna razlika u distribuciji ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe kada je reč o učestalosti pružanja informacija i saveta o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija ($\chi^2=2.603$, $df=5$, $p=0.761$) (Tabela 34). Na pretestu se većina farmaceuta i farmaceutskih tehničara izjasnila da informacije o folatima u okviru radne prakse u javnim apotekama pruža jednom nedeljno (eksperimentalna grupa: 35.3%, kontrolna grupa: 22.4%) ili nekoliko puta mesečno (eksperimentalna grupa: 22.4%, kontrolna grupa: 24.7%), dok je samo 12 učesnika studije (7.23% kompletnog uzorka) tvrdilo da to čini svakodnevno.

Sa druge strane, 119 ispitanika (71.68% kompletnog uzorka; 63 ispitanika iz eksperimentalne i 56 iz kontrolne grupe) je potvrdilo da kontracepcijske preparate, vitaminsko-mineralne dijetetske suplemente, testove za utvrđivanje plodnih dana tokom ciklusa i dijagnostička sredstva za utvrđivanje trudnoće ženama reproduktivne dobi izdaje jednom ili više puta dnevno. Analiza odgovora ispitanika primenom Chi-kvadrat testa potvrdila je komparabilnost savetodavne prakse članova farmaceutskog tima eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije za sve navedene kategorije proizvoda (Tabela 35). Najviše ispitanika se izjasnilo da informacije o adekvatnom unosu folata i merama prevencije kongenitalnih anomalija pruža često ili uvek pri izdavanju lekova koji mogu izazvati deficijenciju ovog vitamina (eksperimentalna grupa: 61.2%, kontrolna grupa: 59.3%), a najmanje da to čini prilikom izdavanja oralne kontracepcije i medicinskih sredstava za kontrolu začeca (eksperimentalna grupa: 9.4%, kontrolna grupa: 11.1%).

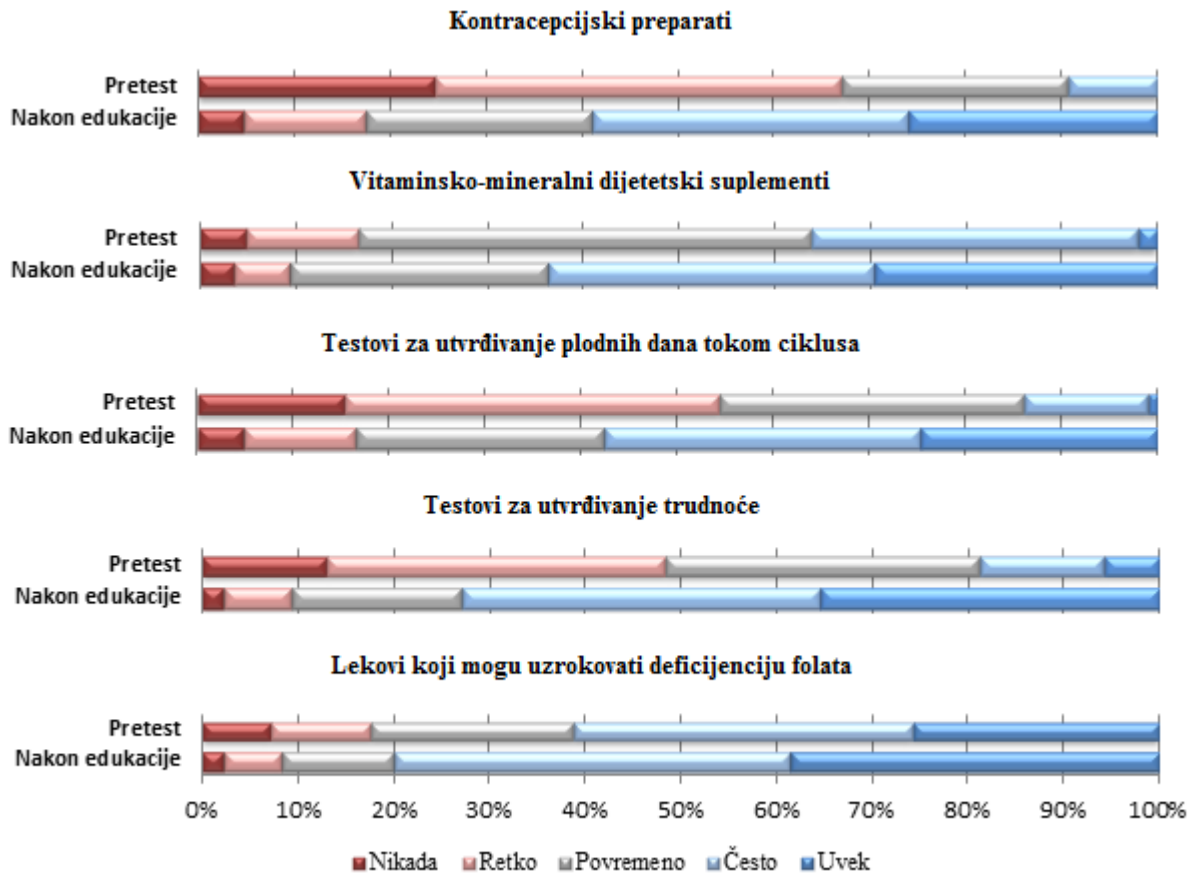
Tabela 34. Distribucija učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima među farmaceutima i farmaceutkim tehničarima eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije

		Učestalost pružanja informacija o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija na nivou pretesta						
		Broj ispitanika (n)	svakodnevno	nekoliko puta nedeljno	jednom nedeljno	nekoliko puta mesečno	jednom mesečno	retko
Kompletne kohorte	Eksperimentalna grupa	85	2 (2.4%)	18 (21.2%)	30 (35.3%)	19 (22.4%)	9 (10.6%)	7 (8.2%)
	Kontrolna grupa	81	4 (4.9%)	17 (21.0%)	31 (38.3%)	20 (24.7%)	5 (6.2%)	4 (4.9%)
Vojvodina	Eksperimentalna grupa	20	1 (5.0%)	5 (25.0%)	7 (35.0%)	4 (20.0%)	2 (10.0 %)	1 (5.0%)
	Kontrolna grupa	20	2 (10.0%)	4 (20.0%)	9 (45.0%)	4 (20.0%)	1 (5.0%)	0 (0.0%)
Beograd	Eksperimentalna grupa	26	1 (3.8%)	6 (23.1%)	9 (34.6%)	3 (11.5%)	4 (15.4%)	3 (11.5%)
	Kontrolna grupa	25	1 (4.0%)	6 (24.0%)	7 (28.0%)	7 (28.0%)	2 (8.0%)	2 (8.0%)
Centralna i zapadna Srbija	Eksperimentalna grupa	19	0 (0.0%)	3 (15.8%)	7 (36.8%)	6 (31.6%)	2 (10.5%)	1 (5.3%)
	Kontrolna grupa	18	1 (5.6%)	4 (22.2%)	7 (38.9%)	4 (22.2%)	1 (5.6%)	1 (5.6%)
Južna i istočna Srbija	Eksperimentalna grupa	20	0 (0.0%)	4 (20.0%)	7 (35.0%)	6 (30.0%)	1 (5.0%)	2 (10.0%)
	Kontrolna grupa	18	0 (0.0%)	3 (16.7%)	8 (44.4%)	5 (27.8%)	1 (5.6%)	1 (5.6%)

Tabela 35. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama: komparativna analiza eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije (pretest)

		Učestalost pružanja informacija i saveta o adekvatnom unosu folata prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda (%) na nivou pretesta		
		Eksperimentalna grupa (n=85)	Kontrolna grupa (n=81)	Analiza razlike između grupa
Kontracepcijski preparati	Nikada	24.7	23.5	$\chi^2=0.193$, df=3, p=0.978
	Retko	42.4	40.7	
	Povremeno	23.5	24.7	
	Često	9.4	11.1	
	Uvek	0.0	0.0	
Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi	Nikada	4.7	3.7	$\chi^2=0.233$, df=4, p=0.994
	Retko	11.8	11.1	
	Povremeno	47.2	45.7	
	Često	34.1	37.0	
	Uvek	2.0	2.5	
Testovi za utvrđivanje plodnih dana tokom ciklusa	Nikada	15.3	13.6	$\chi^2=0.406$, df=4, p=0.982
	Retko	38.9	43.2	
	Povremeno	31.7	30.9	
	Često	12.9	11.1	
	Uvek	1.2	1.2	
Testovi za utvrđivanje trudnoće	Nikada	12.9	11.1	$\chi^2=0.719$, df=4, p=0.949
	Retko	35.3	30.9	
	Povremeno	32.9	37.0	
	Često	12.9	13.6	
	Uvek	5.9	7.4	
Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folate	Nikada	7.1	8.6	$\chi^2=3.386$, df=4, p=0.495
	Retko	10.6	7.4	
	Povremeno	21.2	24.7	
	Često	35.3	43.2	
	Uvek	25.9	16.0	

Analizom podataka generisanih u završnoj tački studije utvrđeno je da se, nakon realizovanog edukacionog programa, kod ispitanika iz eksperimentalne grupe statistički značajno povećala učestalost pružanja informacija o perikonceptijskoj suplementaciji folnom kiselinom i značaju adekvatnog statusa folata za opšte i reproduktivno zdravlje (Slika 35).



Slika 35. Promena distribucije učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama među ispitanicima eksperimentalne grupe

U odnosu na podatke iz početne tačke studije (pretest), Chi kvadrat test jednog uzorka (tj. Chi kvadrat test podudaranja) pokazao je da je su farmaceuti i farmaceutski tehničari nakon edukacije češće koristili prilike poput izdavanja kontraceptivnih preparata ($\chi^2=553.123$, $df=4$, $p<0.001$), vitaminsko-mineralnih dijetetskih suplemenata ($\chi^2=274.475$, $df=4$, $p<0.001$), testova za utvrđivanje plodnih dana tokom ciklusa ($\chi^2=449.461$, $df=4$, $p<0.001$), dijagnostičkih sredstava za utvrđivanje trudnoće ($\chi^2=197.690$, $df=4$, $p<0.001$) i lekova koji mogu izazvati deficijenciju folata ($\chi^2=14.333$, $df=4$, $p<0.01$) da daju relevantne informacije o ovim esencijalnim nutrijentima.

U grupi njihovih kolega koji nisu bili izloženi edukativnom programu registrovano je povećanje učestalosti savetovanja prilikom izdavanja vitaminsko-mineralnih dijetetskih suplemenata na nivou kompletne kohorte ($\chi^2=83.290$, $df=4$, $p<0.01$) i u Vojvodini ($\chi^2=14.968$, $df=4$, $p<0.01$), odnosno testova za utvrđivanje trudnoće u Beogradu ($\chi^2=13.288$, $df=4$, $p<0.05$) i Centralnoj i zapadnoj Srbiji ($\chi^2=7.688$, $df=4$, $p<0.01$).

Na osnovu sopstvenog iskaza, farmaceuti i farmaceutski tehničari iz eksperimentalne grupe su tokom mesec dana studije, u proseku, na nedeljnom nivou, o folatima savetovali 13.8 ± 3.4 (opseg 2-19) žena tokom redovne prakse u javnim apotekama. Članovi farmaceutskog tima iz kontrolne grupe su ove aktivnosti sprovodili znatno ređe, pa je prosečan broj pacijentkinja koje su savetovali bio 3.14 ± 2.4 (opseg 0-7) ($t=22.667$, $p<0.001$).

Iako je u eksperimentalnoj grupi zabeležen trend blagog smanjenja broja žena kojima su pružene informacije o folatima tokom četiri nedelje studije, analiza varijanse ponovljenih merenja je pokazala da ni u jednoj od kohorti nije bilo statistički značajne promene savetodavne aktivnosti ispitanika u funkciji vremena ($p>0.05$).

4.3.5 Procena zadovoljstva polaznika edukativnim programom o biološkoj ulozi i značaju folata

Namenski kreiran edukativni program usmeren na unapređenje znanja o folatima farmaceuti i farmaceuti iz eksperimentalne grupe su ocenili visokim ocenama. Na skali od 1.0 do 5.0 opšta ocena programa iznosila je 5.0. Ocene za specifične aspekte edukacije date su u Tabeli 36.

Nije utvrđena statistički značajna razlika u ocenama između stratuma zasnovanih na geografskim determinantama (Vojvodina, Beograd, Centralna i zapadna Srbija i Južna i istočna Srbija), profesionalnom profilu polaznika (farmaceuti i farmaceutski tehničari) i polu.

Više od 95% ispitanika se izjasnilo da je program zadovoljio njihova očekivanja, a 92.94% bi ga preporučilo kolegama. Prema sopstvenom iskazu 78 ispitanika je uvereno da su usvojili predstavljene sadržaje, a 89.41% je motivisano da nova znanja primeni u svakodnevnoj radnoj praksi.

Tabela 36 . Evaluacija zadovoljstva polaznika edukativnim programom o folatima

Eksperimentalna grupa	Aspekti edukativnog programa						Opšta ocena
	Izbor teme	Sadržaj	Korisnost za radnu praksu	Način i metode predavljanja sadržaja	Izlaganje predavača	Organizacija	
Kompletna kohorta (n=85)	4.80	5.00	4.77	5.00	5.00	4.81	5.00
Farmaceuti (n=48)	4.94	5.00	4.84	5.00	5.00	4.84	5.00
Farmaceutski tehničari (n=37)	4.74	5.00	4.69	5.00	5.00	4.77	5.00
Vojvodina (n=20)	4.74	5.00	4.71	5.00	5.00	4.89	5.00
Beograd (n=26)	5.00	5.00	4.82	5.00	5.00	4.76	5.00
Centralna i zapadna Srbija (n=19)	4.84	5.00	4.80	5.00	5.00	4.83	5.00
Južna i istočna Srbija (n=20)	4.78	5.00	4.75	5.00	5.00	4.77	5.00

5 DISKUSIJA

Nutritivne deficijencije prepoznate su kao jedan od glavnih preventabilnih faktora rizika za nastanak kongenitalnih anomalija i drugih neželjenih ishoda trudnoće. Optimalno izbalansirana ishrana majki uz adekvatan unos makro i mikronutrijenata izuzetno je važna za obezbeđivanje normalnog embrionološkog razvoja, a folati se ističu kao nutrijenti od posebnog značaja ⁽⁹⁴⁾. Ipak, uprkos postignutom naučnom konsenzusu o koristima folne kiseline u obezbeđivanju zdravog potomstva i činjenici da su mnoga regulatorna tela u oblasti zdravlja izdala preporuke o primeni folne kiseline u periodu planiranja začeća i ranim fazama trudnoće, studije ukazuju da je među ženama reproduktivne dobi unos ovog esencijalnog nutrijenta i dalje suboptimalan ^(208,210,264–267). Na varijabilnost situacije u različitim zemljama utiče niz faktora kao što su: stepen obaveštenosti žena o merama prevencije defekata nervne cevi, postojanje, primena i obuhvat strategija za unapređenje unosa i statusa folata u ciljnoj populacionoj grupi, dostupnost i priuštivost suplemenata folne kiseline i konačno, izloženost stanovništva namirnicama koje su fortifikovane ovim vitaminom ^(80,199).

Procena nutritivnog statusa danas je prepoznata kao važan deo zdravstvene nege na individualnom i populacionom nivou. Prvi korak u suočavanju sa izazovom ostvarivanja adekvatnog unosa folata kao esencijalnih nutrijenata je pouzdana i objektivna procena nutritivnog statusa zasnovana na primeni standardizovanih, validiranih instrumenata, koji su prilagođeni specifičnim karakteristikama populacije od interesa. Iz toga je proistekao prvi cilj ove doktorske disertacije – razvoj i evaluacija validnosti Upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji (F-FFQ).

U okviru validacionog procesa zasnovanog na metodi trijade prikupljene su informacije o dijetarnom unosu primenom dve retrospektivne subjektivne metode (ponovljene 24h akete ishrane i FFQ) i određena je koncentracija dva biohemijska pokazatelja statusa folata (koncentracija folata u serumu i eritrocitima) ^(223,224). Utvrđeni koeficijent validacije za F-FFQ bio je visok bez obzira na korišćeni biomarker ($\rho_{QI_{rbc}}=0.871$ odnosno $\rho_{QI_{ser}}=0.814$). Takođe, potvrđen je visok stepen slaganja je između

razvijenog F-FFQ-a i ponovljenih 24h anketa ishrane Bland-Altman dijagramima i unakrsnom klasifikacionom analizom.

Procenjeni prosečni dnevni unos folata 503 ispitanice koje su ispunile F-FFQ bio je 206.2 μg DFE, odnosno 214.1 μg DFE u validacionom poduzorku. Ovi podaci su usaglašeni sa prethodno objavljenim vrednostima za populaciju srpskih žena, koje su procenjene primenom sedmodnevnih dnevnika ishrane (tj. 228.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$) ⁽²⁶⁸⁾. Slične vrednosti registrovane su i u drugim studijama širom Evrope primenom alternativnih upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica (Švedska: 225.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁶⁹⁾, Holandija: 177.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²³⁵⁾, Italija: 222.4 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷⁰⁾, Norveška: 209.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷¹⁾), 24h anketa ishrane (Poljska: 211.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷²⁾, Finska: 205.0 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷³⁾, Grčka: 227.2 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷⁴⁾, Austrija: 212.7 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷⁵⁾), i 48h anketa ishrane (Španija: 196.9 $\mu\text{g}/\text{dan}$ ⁽²⁷⁶⁾).

U sprovedenoj studiji, grupe namirnica koje su se izdvojile kao glavni izvori folata bile su povrće i proizvodi od povrća, žitarice i proizvodi od žitarica i voće i proizvodi od voća sa 37.35%, 23.39% i 11.52% doprinosa prosečnom dnevnom unosu ovog nutrijenta, redom. Navedeni rezultati saglasni su sa nedavnom komparativnom analizom standardizovanih vrednosti dijetarnog unosa folata, koja je sprovedena uz učešće 36034 ispitanika na nivou 10 zemalja koje su deo EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) istraživačke mreže ⁽²⁷⁷⁾

Veliki broj nacionalnih dijetarnih studija ukazuje na široku zastupljenost suboptimalnog unosa folata kod žena reproduktivne dobi u Evropi. Ova istraživanja tako ističu perspektivu obezbeđivanja statusa folata koji je dovoljan ne samo da se prevenira klinički evidentna deficijencija tj. razvoj megaloblastne anemije, već i da se garantuje najveći stepen zaštite od nastanka defekata nervne cevi ploda u slučaju začeca ^(82,278,279). Zabrinjavajuć je podatak da je kod više od 90% učesnica naše studije registrovan unos folata ispod granice preporučenog unosa ovog nutrijenta (*Recommended Nutrient Intake* – RNI: 400 μg DFE/dan). S ciljem da se osigura adekvatan unos i status folata na populacionom nivou, mnoge zemlje su se opredelile za strategiju kontrolisane fortifikacije proizvoda koji su u opštoj i širokoj upotrebi folnom kiselinom. Međutim, kako to nije

slučaj sa Republikom Srbijom, paleta uvoznih i dobrovoljno obogaćenih proizvoda je prilično skromna na srpskom tržištu. Dodatno, rezultati ove studije potvrdili su prethodna saznanja da je mali udeo žena reproduktivne dobi u našoj zemlji koje redovno primenjuju folnu kiselinu u vidu dijetetskih suplemenata ⁽²⁸⁰⁾.

Literaturni izvori sugerišu da povezanost metoda za procenu dijetarnog unosa (FFQ i 24h ankete ishrane), izražena kao koeficijent korelacije između procenjenih vrednosti unosa nekog nutrijenta, treba da bude veća ili jednaka 0.3, poželjno preko 0.4, a idealno između 0.5 i 0.7 ⁽⁷⁴⁾. Korelacioni koeficijent između F-FFQ-a i prosečne vrednosti tri 24h ankete ishrane za folate u ovoj studiji iznosio je $r=0.56$ ($p<0.001$) u ukupnom uzorku, odnosno $r=0.57$ ($p<0.001$) u validacionoj grupi. Slične vrednosti registrovane su i u drugim studijama u kojima je evaluirana valjanost upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica (FFQ) koji su namenjeni proceni unosa folata. Pauwels i saradnici ⁽²⁸¹⁾ su razvili FFQ za procenu dijetarnog unosa jedinjenja koja su donori metil grupe i validirali ga u odnosu na sedmodnevne dnevnik ishrane na uzorku flamanskih žena reproduktivne dobi. U pomenutom istraživanju koeficijent korelacije između dve metode iznosio je $r=0.58$. Sličnu vrednost prijavili su Jackson i saradnici ⁽²⁸²⁾ ($r=0.56$), izveštavajući o poređenju FFQ-a sa ponovljenim 24h anketama ishrane na uzorku od 70 muškaraca i žena na Jamajci. U studiji u kojoj je učestvovalo 37 ispitanika i u kojoj je validnost kratkog FFQ-a procenjena u odnosu na sedmodnevne dnevnik ishrane realizovane uz merenje konzumirane hrane, utvrđen je parcijalni koeficijent validacije (kontrolisan za pol) $r=0.53$ ⁽²³⁶⁾. U severnoj Švedskoj, regiji koja je, poput Republike Srbije, bez implementirane politike obavezne fortifikacije folnom kiselinom, validnost razvijenog FFQ-a je ispitivana u odnosu na 24h ankete ishrane i Spearman-ov koeficijent korelacije između dve metode iznosio je $r=0.57$ za ženske ispitanike ⁽²⁶⁹⁾. French i saradnici ⁽²⁸³⁾ su razvili FFQ za procenu unosa folata među ženama reproduktivnog potencijala u Kanadi i validirali ga u odnosu na sedmodnevne dnevnik ishrane. Među vrednostima unosa folata koje su procenjene primenom navedenih metoda određen je koeficijent korelacije $r=0.51$. Nedavno je sprovedena studija, u kojoj je učestvovalo 67 žena iz Velike Britanije, s ciljem provere valjanosti namenski kreiranog FFQ-a za procenu unosa mikronutrijenata koji su donori metil grupa (folati, holin, betain) i

odabranih antioksidanasa. Deatenuirani koeficijent korelacije između vrednosti unosa folata koje su generisane primenom FFQ-a i tri 24h ankete ishrane iznosio je $r=0.47$, kada je razmatrana samo hrana, odnosno $r=0.80$, kada su u analizu uključeni i dijetetski suplementi ⁽²⁸⁴⁾.

U ovoj studiji su u procesu validacije, kao relevantni biohemijski pokazatelji statusa, korišćeni koncentracija folata u serumu i eritrocitima. Utvrđene su značajne korelacije oba biomarkera sa unosom procenjenim pomoću dijetarnih metoda. Izračunate vrednosti za koeficijent korelacije između F-FFQ-a i biomarkera uporedive su sa rezultatima drugih studija i za koncentraciju folata u eritrocitima ($r_{rbc}=0.37$ *versus* 0.34 ⁽²²⁸⁾, 0.33 ⁽²⁸²⁾ i 0.35 ⁽²⁸⁵⁾) i u serumu ($r_{ser}=0.28$ *versus* 0.25 ⁽²³⁵⁾, 0.20 ⁽²⁸²⁾ i 0.26 ⁽²⁸⁶⁾). Smatra se da nivo folata u serumu reflektuje skorašnji unos, dok je koncentracija u crvenim krvnim ćelijama biomarker koji ukazuje na dugoročnu izloženost folatima i tkivne zalihe. Budući da se folati akumuliraju u eritrocitima samo tokom eritropoeze ovo je integrativni pokazatelj statusa za period koji odgovara normalnom životnom veku eritrocita (tj. 120 dana) ⁽⁸⁰⁾. Ovaj vremenski okvir blizak je definisanom referentnom periodu za F-FFQ, pa je i logična viša vrednost korelacionog koeficijenta između unosa folata procenjenog F-FFQ-om i koncentracije u eritrocitima u odnosu na serum. Svetska zdravstvena organizacija ukazuje da koncentracija folata u eritrocitima kod žena reproduktivne dobi treba da bude najmanje 906 nmol/L da bi se obezbedila optimalna prevencija defekata nervne cevi ⁽⁸³⁾. Nijedna od ispitanica obuhvaćenih ovom studijom nije dostigla pomenutu vrednost.

Iako je analiza korelacije popularna tehnika koja se relativno jednostavno interpretira i poredi sa procenama prethodno sprovedenih studija, njome se utvrđuje snaga veze između varijabli, ali ne i slaganje među njima ^(287,288). U skladu sa preporukama da u proceni relativne validnosti FFQ-a treba primeniti različite statističke pristupe konstruisani su i Bland-Altman dijagrami i sprovedena je klasifikacija u kategorije na osnovu unosa odnosno pokazatelja statusa ⁽²⁸⁹⁾. Bland-Altman dijagrami su ukazali na odsustvo sistemske greške u proceni dijetarnog unosa folata i visok stepen usaglašenosti između F-FFQ-a i 24h anketa ishrane kao referentne metode. Analizirani F-FFQ ispravno je svrstao 84% ispitanica u isti ili susedni kvartil kao 24h ankete odnosno 82% kao biohemijski

indikatori statusa. O sličnim rezultatima unakrsne klasifikacione analize izveštavali su u drugim validacionim studijama za FFQ-e, koji su dizajnirani za procenu unosa folata. Naime, za upitnike koje su razvili Johansson i saradnici ⁽²⁶⁹⁾, odnosno Fayet i saradnici pokazana je korektna klasifikacija (u isti ili susedni kvartil kao 24h ankete ishrane) za 84% i 83% ispitanika, redom. U našoj studiji F-FFQ je u potpuno suprotne kvartile svrstao svega 4% žena, što je uporedivo sa 4.3% , koliko je registrovano u studiji koja je sprovedena na uzorku odraslih Jamajčana ⁽²⁸²⁾.

Primena metode trijade omogućila je simultano poređenje F-FFQ-a sa 24h anketama ishrane i biomarkerima statusa folata. U našoj studiji utvrđeni su visoki koeficijenti validacije između stvarnog unosa (I) i dijetarnih metoda (FFQ-a i ponovljenih 24h anketa ishrane) ($\rho_{QI_{rbc}}=0.871$ odnosno $\rho_{QI_{ser}}=0.814$; $\rho_{RI_{rbc}}=0.652$ odnosno $\rho_{RI_{ser}}=0.698$) i umereni za biomarkere ($\rho_{BI_{rbc}}=0.428$ odnosno $\rho_{BI_{ser}}=0.421$). Slično drugim studijama koje su koristile triangulacioni pristup u validaciji FFQ-a dobijeni koeficijenti validacije za FFQ i 24h ankete ishrane bili su viši u odnosu na vrednosti za oba biomarkera ^(235–237,290,291). Takav nalaz se može objasniti činjenicom da FFQ i 24h ankete ishrane imaju direktnu namenu procene dijetarnog unosa nutrijenata, dok na biomarkere, pored nutritivnog unosa, utiče čitav niz dodatnih fiziološko-biohemijskih faktora. Dobijeni rezultati za koeficijent validacije F-FFQ-a uporedivi su sa objavljenim studijama u kojima je primenjena metoda trijade u validaciji FFQ-a za procenu unosa folata ($\rho_{QI_{rbc}}=0.871$ *versus* 0.750, 0.690_{muškarc} i 0.410_{žene}; $\rho_{QI_{ser}}=0.814$ *versus* 0.940, 0.850_{muškarc}, 0.690_{žene} i 0.720) ^(235,236,292), ali i drugih nutrijenata kao što su vitamin D (0.847) ⁽²³⁷⁾, α -karoten (0.850) ⁽²³⁸⁾, β -karoten (0.760) ⁽²⁹³⁾ i vitamin B₁₂ (0.950) ⁽²⁹⁴⁾. Primena metode trijade omogućila je dodatni, dragoceni uvid u performanse F-FFQ-a i osnažila dokaz o validnosti ovog instrumenta.

Prednosti ove validacione studije uključuju: način prikupljanja podataka (direktni usmeni intervjui sa obučanim istraživačima), primenu detaljne liste namirnica sa fotografijama različitih veličina porcija, raznovrsnu statističku potvrdu validnosti i uključivanje žena reproduktivne dobi iz različitih regiona Srbije: Dodatno, kvalitet studije osnažuje razmatranje primene dijetetskih suplemenata, kao i analiza biohemijskih pokazatelja skorašnjeg unosa i dugoročnog statusa folata. Prema revijskom radu Cade i

saradnika ⁽⁷²⁾ u čak tri četvrtine validacionih studija FFQ je validiran u odnosu na ponovljene 24h ankete ishrane kao referentni metod. Naj taj način se praktično utvrđuje da li se pomenutim metodama mogu dobiti dovoljno slični rezultati odnosno tzv. „medju-metodska pouzdanost“ (eng. „*inter-method reliability*“). Uključivanjem biohemijskih pokazatelja statusa nutrijenta kao treće varijable sa nezavisnim potencijalnim greškama pristup metode trijade omogućuje proširivanje validacionih parametara i kompletniju analizu ^(223,224,226).

Budući da je u ukupnom uzorku bilo 503 ispitanice, a 50 je dalo i uzorke venske periferne krvi za određivanje biomarkera statusa folata, broj ispitanica uključenih u ovu studiju usaglašen je sa preporukama za studije validacije ⁽²³⁴⁾. Takođe, veličina uzorka je uporediva sa prethodno sprovednim studijama u kojima je primenjen pristup metode trijade (50 *versus* 53 ⁽²³⁵⁾, 36 ⁽²³⁶⁾, 20 ⁽²³⁷⁾ i 28 ⁽²³⁸⁾), a pored toga, uski 95% intervali pouzdanosti za koeficijente validacije potvrđuju adekvatnost uzorka. Važno je pomenuti i da u ovoj studiji nisu registrovani tzv. Heywood slučajevi (odnosno vrednosti koeficijenta validacije preko 1) što ukazuje na odsustvo kršenja osnovnih pretpostavki modela ⁽²²³⁾.

Dodatno, s ciljem da se obezbedi adekvatnost upitnika u kontekstu kulturoloških i geografskih determinanti ishrane, velika pažnja je posvećena da se u upitnik uključe lokalno dostupne namirnice i tradicionalna jela koja se konzumiraju u Srbiji ⁽²⁹⁵⁾. Imajući u vidu sličnost navika u ishrani i kuturološko nasleđe, F-FFQ bi potencijalno mogao da bude koristan instrument za procenu dijetarnog unosa folata i u drugim populacionim grupama na području Balkana. Ipak, bilo bi neophodno sprovesti dodatne studije za proveru validnosti pre eventualne primene u drugoj populaciji.

Potencijalni nedostatak ove studije je činjenica da je uzorkovanje krvi za utvrđivanje biomarkera statusa sprovedeno samo jednom. Takođe, u ovoj studiji nije ocenjena reproducibilnost FFQ-a, što se može smatrati još jednim ograničenjem. Ipak, prema Altmanu metod slabe reproducibilnosti nikada se neće slagati sa drugim metodom (odnosno, validnost instrumenta implicira i njegovu pouzdanost, ali ne i obrnuto) ⁽²⁹⁶⁾. Imajući u vidu dobre rezultate dobijene u proceni slaganja F-FFQ-a i 24h anketa ishrane,

slaba reproducibilnost ovog instrumenta može se smatrati malo verovatnom. Buduća istraživanja bi trebalo usmeriti na detaljno proučavanje sezonskih varijacija u unosu folata prikupljanjem anketa ishrane za svakog ispitanika u svakoj sezoni tokom godine jer je to bilo van organizacionih okvira ove studije. Ipak, kako je nedavno sprovedeno istraživanje sa velikim brojem ispitanika širom Evrope ukazalo na odsustvo sistemskih sezonskih varijacija u unosu folata, može se smatrati da izostanak pomenutog plana prikupljanja i analize dijetarnih upitnika nije predstavljao značajan ograničavajući faktor studije ⁽²⁷⁷⁾.

Konačno, kao i u većini istraživanja u oblasti ishrane, nije moguće ignorisati ograničenja koja se odnose na same instrumente za procenu ishrane. Obe korišćene dijetarne metode značajno zavise od memorije i iskrenosti ispitanika, kao i njihove percepcije veličine porcija. S ciljem da se olakša prisećanje ispitanica i dobiju detaljniji podaci korišćena je tehnika višestrukog prelaza kod 24h anketa ishrane. Takođe, da bi se unapredila preciznost u proceni veličine porcija korišćen je tzv. atlas hrane. U F-FFQ-u su stavke organizovane po grupama namirnica, a inkorporirane su i fotografije različitih veličina porcije kako bi se unapredila preglednost, jednostavnost primene i tačnost procene. Kako bi se redukovale greške koje potiču od samog istraživača i načina vođenja intervjua sprovedena je obuka i definisan standardizovan protokol.

Imajući u vidu potencijalne posledice neadekvatnog statusa folata na nivou opšteg zdravlja i ishoda trudnoće, a na osnovu rezultata opisane studije, evidentna je potreba za pažljivo kreiranim, efikasnim i održivim javnozdravstvenim intervencijama, kao što su edukacioni programi usmereni ka unapređenju svesti žena o značaju folata i nutritivne intervencije usmerene ka promovisanju suplementacije u ciljnoj populacionoj grupi. Glavni izazov, koji ograničava uspešnost ovakvog pristupa u preveniranju defekata nervne cevi u zemljama u kojima, poput Republike Srbije, nije uspostavljena legislativa obavezne fortifikacije odabranh životnih namirnica folnom kiselinom, proističe iz činjenice da je teratogeno dejstvo neodgovarajućeg statusa folata najintenzivnije tokom perioda neurulacije, odnosno u prvih 28 dana od začeća. Imajući u vidu visoku stopu neplaniranih trudnoća, jasno je da stimulisanje adherence sa preporukama o unosu ovog nutrijenta i druge programe i aktivnosti u okviru perikonceptijske nege treba usmeriti ka svim ženama

reproduktivne dobi. U tom kontekstu su odgovornost i uloga zdravstvenih profesionalaca posebno naglašeni.

Kao visoko dostupni i pouzdani članovi društva, farmaceuti i farmaceutski tehničari zaposleni u javnim apotekama imaju priliku i profesionalnu odgovornost da aktivno učestvuju u promociji zdravlja i prevenciji bolesti ⁽²⁹⁷⁾. Tokom rutinskih interakcija sa ženama reproduktivne dobi, oni mogu da prepoznaju biomedicinske i bihejvioralne faktore rizika koji potencijalno ugrožavaju zdravlje i izazivaju neželjene ishode trudnoće, i da na njih odreaguju odgovarajućim savetima, informacijama ili upućivanjem na druge zdravstvene profesionalce u okviru kolaborativne zdravstvene nege ⁽²¹⁷⁾. Da bi se ostvario pun potencijal doprinosa farmaceuta i farmaceutskih tehničara unapređenju zdravlja žena u reproduktivnom periodu neophodan preduslov je odgovarajuće znanje o problematici, pozitivna percepcija važnosti ovih aktivnosti i motivisanost da se redovno implementiraju u okviru radne prakse u javnim apotekama.

Na osnovu svega navedenog formulisan je cilj druge studije u okviru doktorske disertacije tj. ispitivanje znanja, stavova i prakse članova farmaceutskog tima u vezi sa svetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata. Uvidom u dostupne literaturne izvore utvrđeno je da do sada, u Republici Srbiji, ova tema nije bila predmet naučnog istraživanja. U skladu sa tim, namenski je kreiran upitnik za sprovođenje studije na osnovu detaljnog pregleda relevantne literature uz primenu ekspertskih konsultacija i pre-testiranja. Dodatno, realizovana je pilot studija na manjem, prigodnom uzorku da bi se potvrdila izvodljivost istraživanja i evaluirala preliminarna pouzdanost instrumenta. Glavna studija je obuhvatila nacionalni stratifikovani uzorak farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz svih regija zemlje uz učešće ukupno 730 ispitanika.

Činjenica da su gotovo svi ispitanici (96.6%) tačno prepoznali vrste deformiteta koji se mogu prevenirati folnom kiselinom ukazuje na visok nivo opšte svesti o ovoj temi. Takvi rezultati usaglašeni su sa drugim studijama, koje su sprovedene među farmaceutima, studentima farmacije i akušerima-ginekolozima ⁽²⁹⁸⁻³⁰⁰⁾. Međutim, ovo istraživanje je otkrilo i izvesne propuste u znanju u vezi sa specifičnim aspektima folata kao esencijalnih

nutrijenata od velikog značaja za zdravlje i preporukama o primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline. Naime, iako je više od dve trećine ispitanika znalo dnevne preporučene vrednosti dijetarnog unosa folata (67%) i dozu folne kiseline koja se preporučuje ženama sposobnim da ostanu u drugom stanju (77%), manje od polovine ispitanih članova farmaceutskog tima je tačno identifikovalo dozu za prevenciju rekurencije defekata nervne cevi i dozu za žene kod kojih je utvrđen povećan rizik od nastanka ovog tipa kongenitalnih anomalija ploda. Teme za koje su ispitanici demonstrirali najniži nivo znanja bile su poreklo folne kiseline, razlike u biološkoj raspoloživosti prirodnih folata i sintetskog oblika vitamina i aktuelna legislativa u vezi sa fortifikacijom životnih namirnica folnom kiselinom u Republici Srbiji.

Zabrinjava podatak da gotovo 40% učesnika studije nije znalo da, s ciljem ostvarivanja optimalne prevencije defekata nervne cevi, suplementaciju folnom kiselinom treba započeti pre začeća, a ne po utvrđivanju trudnoće. Ovaj rezultat jasno je pratio nizak udeo tačnih odgovora na pitanje koje se odnosilo na vremenski okvir razvoja nervne cevi odnosno dinamiku procesa neurulacije. Kada je reč o pomenutim oblastima informacija o folatima može se reći da su one prepoznate kao problematične i na nivou drugih grupa zdravstvenog osoblja širom sveta. Konkretno, još niži nivo znanja registrovan je među akušerima i specijalistima za zdravlje žena u severnoj Kini, lekarima opšte prakse u južnom Izraelu, zdravstvenim profesionalcima u severozapadnoj Etiopiji i zdravstvenim radnicima sa primarnog nivoa zdravstvene zaštite u Čileu ^(301–304). Step en obaveštenosti članova farmaceutskog tima iz naše studije bio je komparabilan sa znanjem farmaceuta zaposlenih u javnim apotekama u Ohaju, a interesantno je da su identifikovani i slični propusti odnosno deficiti ^(298,305).

Utvrđeno je da su profesionalni status i najviši stepen formalnog obrazovanja imali značajan uticaj na znanje o folnoj kiselinu i po tome su dobijeni rezultati konzistentni sa prethodno sprovedenim studijama u kojima su učestvovala različita grupa zdravstvenih radnika i saradnika ^(301,303,306). Farmaceutski tehničari imali su slabije postignuće na testu znanja u odnosu na farmaceute stažere i farmaceute sa licencom za većinu analiziranih domena.

Studija sprovedena među studentima završne (pete) godine Farmaceutskog fakulteta Univerziteta u Beogradu (n=151) ukazala je na postojanje opšteg znanja o folatima, ali i potvrdila prepoznate kritične oblasti nedovoljne informisanosti. Ohrabruje visok nivo zainteresovanosti studenata za ovu temu, kao i spremnost i želja za dodatnom edukacijom. Imajući u vidu potencijalne implikacije na budući profesionalni angažman, bilo bi važno da akademska zajednica to dodatno podstakne i podrži inovativnim, prilagođenim nastavnim rešenjima i didaktičkim sadržajima koji su obimom, strukturom i ciljevima usaglašeni sa potrebama znanja stručnjaka u praksi.

Rezultati članova farmaceutskog tima na testu znanja ukazuju da je neophodno dodatno istražiti uzroke identifikovanih propusta i, u skladu sa tim, uneti potrebne modifikacije na nivou obrazovnog kurikuluma, kreirati odgovarajuće programe u okviru kontinuirane profesionalne edukacije i razviti konkretne i praktične vodiče za radnu praksu.

Većina ispitanika je prepoznala važnost povoljnih efekata folne kiseline na ishode trudnoće i gotovo svi farmaceuti i farmaceutski tehničari su izrazili podršku unapređenju svesti žena reproduktivne dobi o ovoj temi. Iako je 40% učesnika studije bilo mišljenja da folna kiselina doprinosi medikalizaciji trudnoće, u skladu sa nalazima istraživanja sprovedenog u Holandiji, to nije uticalo na njihovo odobravanje primene ove mere za prevenciju defekata nervne cevi ⁽³⁰⁷⁾.

Samo 2.7% ispitanika je bilo uverenja da su žene u Srbiji dovoljno informisane o značaju statusa folata u ostvarivanju zdravog potomstva. Takav stav članova farmaceutskog tima podržan je rezultatima prethodno sprovedenih studija koje su ukazale da je redovna primena suplemenata folne kiseline veoma slabo zastupljena među ženama u Republici Srbiji ^(280,308). Ipak, ovakva situacija nije lokalno specifična tj. karakteristična samo za našu zemlju, već se može razmatrati i u proširenom, pan-Evropskom kontekstu. Alarmantno nizak nivo obaveštenosti o protektivnim efektima blagovremene primene folne kiseline i visoka stopa supoptimalne implementacije preporuka u vezi sa perikonceptijskom zdravstvenom negom zabeleženi su u velikoj multinacionalnoj studiji u kojoj je učestvovalo 22000 žena iz raznih evropskih zemalja ⁽³⁰⁹⁾. U pomenutoj studiji su, na osnovu

samostalnog iskaza ispitanica, kao ključni razlozi nedovoljne primene suplemenata folne kiseline pre začeća i tokom trudnoće identifikovani nedovoljna percepcija značaja perikonceptijske nege i izostanak odgovarajućeg savetovanja o toj temi.

Važno je istaći da se, u našem istraživanju, više od 90% farmaceuta sa licencom i farmaceuta stažera složilo da su zdravstveni profesionalci na primarnom nivou zdravstvene zaštite izuzetno značajni za promociju zdravlja u prekonceptijskom periodu. Takođe, saglasno rezultatima istraživanja koja su sprovedena među njihovim holandskim i australijskim kolegama, gotovo svi farmaceuti koji su odgovorili na upitnik prepoznali su zdravstvenu edukaciju o primeni folne kiseline i stimulisanje žena na usvajanje mera za očuvanje i unapređenje zdravlja kao svoje profesionalne obaveze ⁽³⁰⁷⁾. Analiza stavova ispitanika je, ipak, otkrila da čak 37.1% članova farmaceutske tima oseća neprijatnost pri pokretanju teme planiranja porodice i prevencije kongenitalnih anomalija u javnoj apoteci, pri čemu je ovaj problem bio posebno naglašen među muškim ispitanicima. Dodatno, stav da o ovim pitanjima treba diskutovati isključivo na zahtev pacijenata tj. reaktivno izrazilo je 21.3%, 12.2% i 51.0% farmaceuta sa licencom, farmaceuta-stažera i farmaceutskih tehničara, redom. Dosledno nalazima drugih studija, briga farmaceuta da ne ugroze privatnost pacijenata nametljivim savetovanjem, obeshrabruje ih da deluju proaktivno, što uzrokuje nepotpuno iskorišćavanje strateškog potencijala javnih apoteka za diseminaciju informacija o efikasnosti folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi ^(222,310,311).

U skladu sa Globalnom strategijom za zdravlje žena i dece Ujedinjenih Nacija Međunarodna farmaceutska federacija (*International Pharmaceutical Federation (FIP)*) podržava aktivno uključivanje farmaceuta u procese očuvanja i unapređenja zdravlja majki, dece i odojčadi kroz adekvatne aktivnosti i usluge kao što su: skrining, zdravstveno prosvetavanje, sprovođenje intervencija zasnovanih na validnim naučnim dokazima, pružanje usluga farmaceutske zdravstvene zaštite i obezbeđivanje kvalitetnih, bezbednih i efikasnih proizvoda ⁽²¹⁸⁾. Uprkos jasnim preporukama krovne profesionalne organizacije, sprovedena studija je ukazala na veliku diskrepancu između prilika za perikonceptijsko savetovanje i implementiranih aktivnosti, ističući tako jaz između idealnog i realnog doprinosa članova farmaceutske tima. Prema sopstvenom izveštaju, više od polovine

ispitanika informacije i savete o folnoj kiselini pruža jednom nedeljno ili nekoliko puta mesečno, dok samo 10 farmaceuta tvrdi da to čini svakodnevno. Sa druge strane, oko 70% ispitanika je izjavilo da proizvode vezane za opšte i reproduktivno zdravlje žena izdaje pacijentkinjama reproduktivne dobi najmanje jednom dnevno, što otkriva mnoštvo propuštenih prilika za diseminaciju informacija o ulozi folata i pravilnoj primeni folne kiseline u kontekstu planiranja potomstva ⁽²²²⁾. Činjenica da je preporuka zdravstvenog profesionalca prepoznata kao najznačajniji pojedinačni razlog zbog kojeg žene započinju suplementaciju ovim nutrijentom dodatno ističe važnost odgovornog i doslednog pružanja blagovremenih i tačnih, naučno-zasnovanih saveta ⁽³⁰⁹⁾.

Razumevanje ključnih prepreka adekvatnoj realizaciji ovih aktivnosti predstavlja preduslov za suočavanje sa nezadovoljavajućim angažovanjem farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz javnih apoteka i razmatranje mogućih rešenja. Saglasno rezultatima drugih studija, članovi farmaceutskog tima koji su ispunili upitnike prepoznali su nedostatak vremena i odgovarajućeg prostora, nizak nivo motivacije osoblja, neprijatnost pri pominjanju defekata nervne cevi, izostanak finansijske kompenzacije za usluge savetovanja, problematičnu saradljivost i zainteresovanost pacijenata i ograničeno znanje kao glavne barijere koje ometaju ili onemogućavaju učestalije zdravstveno prosvetavanje žena o folatima ^(311–314).

Ajzen – Fishbein Teorija planiranog ponašanja (*Theory of Planned Behaviour*), kao ekstenzija Teorije promišljene akcije (*Theory of Reasoned Action*), često se koristi u procesu analize i predviđanja profesionalnog ponašanja zdravstvenih radnika ^(315–318). Ovaj teorijski okvir pretpostavlja da je namera, u kojoj su sadržani motivacioni faktori koji utiču na ponašanje, neposredna prethodnica (antecedent) i dobar prediktor aktivnosti pojedinca ⁽³¹⁹⁾. Prema pomenutom konceptualnom modelu, na nameru, kao ključni formativni elementi utiču stavovi, subjektivne norme (tj. društveni pritisak) i opažena kontrola nad ponašanjem, a navedene determinante su u funkciji bihevioralnih, normativnih i kontrolnih uverenja. Prenosnje ovih socijalno-kognitivnih konstrukata na oblast farmaceutske prakse sugerise da su afirmativni stavovi prema savetovanju u okviru perikonceptijske nege, društveni činoci koji podržavaju te aktivnosti i snažno izražena percepcija kontrole,

pozitivni i značajni prediktori namere farmaceuta i farmaceutskih tehničara da se proaktivno angažuju u diseminaciju naučno-zasnovanih, zdravstveno-promotivnih informacija o folnoj kiselini. Iz iznetog proističe da bi unapređenje objektivnih i subjektivno-opaženih znanja, veština i efikasnosti moglo da osnaži članove farmaceutskog tima da preuzmu značajniju ulogu u perikonceptijskom savetovanju saglasno svojim profesionalnim odgovornostima i okvirima prakse ⁽²¹⁸⁾.

U skladu sa tim, kreiran je edukativni program namenjen farmaceutima i farmaceutskim tehničarima zaposlenim u javnim apotekama u Republici Srbiji i sprovedena je studija intervencije uz primenu eksperimentalnog pretest-posttest dizajna sa ciljem procene njegove uspešnosti. Po definiciji, evaluacija edukativnih programa predstavlja sistematsko prikupljanje i analizu informacija u vezi sa dizajnom, sprovođenjem i ishodima programa s ciljem kontrole uspešnosti i unapređenja kvaliteta i efektivnosti ⁽³²⁰⁾.

Istraživanje je obuhvatilo 166 ispitanika, podeljenih u četiri stratumata prema geografskoj distribuciji tj. pripadnosti regionalnim ograncima nadležnih komora zdravstvenih radnika. Analiza podataka prikupljenih u početnoj tački studije pokazala je komparabilnost strukture ispitivanih kohorti, budući da se kontrolna i eksperimentalna grupa nisu statistički značajno razlikovale prema sociodemografskim karakteristikama ispitanika, njihovom profesionalnom profilu, inicijalnom znanju o folatima, kao i stavovima i savetodavnoj praksi kada je reč o perikonceptijskoj primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline u kontekstu planiranja zdravog potomstva. Homogenost grupa, kao jedna od ključnih pretpostavki interne validnosti, potvrdila je adekvatnost procesa randomizacije, omogućila kontrolu sistemske neželjene varijanse i bolji uvid u uticaj implementirane intervencije na opažene promene u ispitivanim varijablama tokom studije.

Odabrani dizajn i nacrt istraživanja omogućili su poređenje rezultata između grupa, ali i praćenje promena unutar grupa, u funkciji vremena. Te dve dimenzije poređenja (između eksperimentalne i kontrolne grupe, i između pretesta i posttesta) daju epistemološku snagu nacrtu, pre svega u smislu utvrđivanja kauzalne povezanosti između nezavisne varijable (tj. izloženosti edukativnom programu) i zavisnih varijabli (tj. znanja,

stavova i savetodavne prakse članova farmaceutskog tima). Primenom pretest-posttest eksperimentalnog dizajna sa kontrolnom grupom postignuta je kombinacija efekata randomizacije i eksperimentalne manipulacije, čime se maksimalno intenzivira eksperimentalna varijansa, a redukuje neželjena varijansa. Ovakav pristup obezbeđuje najviši nivo osetljivosti i tačnosti procene efektivnosti primenjene intervencije ^(321,322).

S ciljem procene promena u znanju o folatima do kojih je došlo tokom studije primenjeno je više statističkih tehnika. U odnosu na početnu tačku studije, t-testom uparenih uzoraka je potvrđeno statistički značajno unapređenje postignuća na testu znanja kod farmaceuta i farmaceutskih tehničara koji su bili izloženi edukacionom programu i to na nivou i neposrednog i naknadnog posttesta (pretest: 6.54 ± 2.11 vs. posttest 1: 11.39 ± 1.48 , $t(83)=25.955$, $p<0.001$; pretest: 6.54 ± 2.11 vs. posttest 2: 11.14 ± 1.53 , $t(83)=23.465$, $p<0.001$). Dodatno, ista statistička analiza je potvrdila stabilnost stečenih znanja tokom perioda od mesec dana između prvog i drugog posttesta (11.39 ± 1.48 vs. 11.14 ± 1.53 , $t(83)=3.019$, $p>0.05$). Pored pomenute metode, dokaz o poboljšanju znanja osnažila je analiza varijanse ponovljenih merenja, kojom su u obzir uzeti rezultati generisani u sve tri eksperimentalne tačke (Wilks' lambda= 0.111, $F(2,83)=332.878$, $p<0.00$, $\eta^2=0.889$). Bez obzira na pristup, mere koje ukazuju na magnitudu uticaja intervencije su nedvosmisleno ukazale na veliki efekat sprovedne edukacije. Poznavanje i prezentovanje veličine efekta izuzetno je važno u kontekstu potencijalnog kvantitativnog poređenja rezultata ove studije sa drugim istraživanjima slične tematike kroz meta-analitički postupak ^(257–259).

U okviru kontrolne grupe, iako je registrovano poboljšanje rezultata u završnoj tački studije, te promene nisu dostigle nivo statističke značajnosti. Nešto bolja postignuća na testu mogu se objasniti fenomenom senzitivizacije koji podrazumeva pripremu i usmeravanje ispitanika do kojih je došlo samim izlaganjem pretestu ^(255,321,323). Shodno iznetim rezultatima i odsustvu statistički značajnih promena, može se smatrati da, u ovom istraživanju, pomenuti faktor nije ugrozio validnost eksperimenta.

Konačno, primenom jednofaktorske analize kovarijanse ispitane su razlike u demonstriranom znanju između članova farmaceutskog tima koji su bili podvrgnuti

edukaciji i njihovih kolega iz kontrolne grupe koja nije uključena u analiziranu manipulaciju nezavisne varijable. Prednosti ove statističke tehnike odnose se na eliminaciju efekta grupišuće (pridružene) varijable na rezultujuću varijablu čime se ostvaruje kontrola uticaja heterogenosti eksperimentalnih jedinica na konačne zaključke. Kada je kao kovarijat tretiran ostvaren skor u početnoj tački studije, potvrđeno je da su edukovani ispitanici imali statistički značajno bolje performanse na testu ($F(1,165)=536.33$, $p<0.001$). Vrednost parcijalnog eta kvadrata, kao indikatora veličine efekta, ukazala je da 76.7% ($\eta^2=0.767$) varijanse skora na finalnom testu znanja objašnjava pripadnost kontrolnoj ili eksperimentalnoj grupi (odnosno izloženost edukacionoj intervenciji).

Komparativna analiza stavova o savetovanju žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata između članova farmaceutskog tima iz eksperimentalne i kontrolne grupe ukazala je na značajne promene do kojih je došlo nakon edukacione intervencije. Ove promene mogu se razmatrati kroz prizmu trokomponentnog modela stavova, prema kome struktura stavova obuhvata sledeće elemente: kognitivni (spoznajni), afektivni (emocionalni) i konativni (motivacioni/voljni) ^(324–326). Naime, za razliku od kolega iz kontrolne grupe, kod farmaceuta i farmaceutskih tehničara koji su učestvovali u edukativnom programu zabeležena je unapređena percepcija važnosti primene dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda i bolje sagledavanje razmera javnozdravstvenog problema koji predstavljaju kongenitalne anomalije u kontekstu morbiditeta, mortaliteta, društvenih troškova i ljudske patnje. Dodatno, registrovano je i intenzivnije prihvatanje sopstvene uloge i odgovornosti u promociji reproduktivnog zdravlja i zdravstvenom prosvetivanju žena o folatima, kao i spremnost na suočavanje sa izazovima ostvarivanja odgovarajućeg obuhvata pripadnica populacije od interesa.

Kao stečene dispozicije da se na određeni način rasuđuje, emotivno reaguje i deluje, stavovi imaju važno mesto u definisanju profesionalnog ponašanja članova farmaceutskog tima u javnim apotekama ^(315,317,318,327–330). Budući da postoji težnja ostvarivanja kognitivne konzistencije (doslednosti) na relaciji stavova i ponašanja, promene u stavovima najčešće uzrokuju bihevioralna prilagođavanja. Ovu premisu, utemeljenu na Teoriji planiranog ponašanja ^(254,319,331), potvrdili su rezultati sprovedene studije. Na nivou kontrolnih listi i

posttesta registrovano je učestalije pružanje informacija i saveta o folatima, kao i proaktivno angažovanje farmaceuta i farmaceutske tehničara kroz bolje prepoznavanje i intenzivniju eksploataciju prilika za diseminaciju relevantnih informacija.

Analiza upitnika za procenu reakcija polaznika edukativnim programom, potvrdila je visok stepen unapređenja subjektivno-percepiranih profesionalnih kapaciteta za sprovođenje savetovanje žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata, kao i motivisanost da se stečena znanja redovno i dosledno primenjuju u okviru svakodnevne radne prakse.

6 ZAKLJUČNA RAZMATRANJA

U skladu sa definisanim ciljevima, a na osnovu sprovedenih istraživanja i prikazanih rezultata, izvedeni su sledeći zaključci:

U okviru studije preseka, koja je obuhvatila 503 žene reproduktivne dobi, analizom tri dvadesetčetvoročasovne ankete ishrane i upitnika o učestalosti konzumacije namirnica, utvrđen je suboptimalni dijetarni unos folata u ovoj populacionoj grupi. Rezultati studije su potvrdili prethodna saznanja da relativno mali udeo žena reproduktivne dobi u Republici Srbiji primenjuje folnu kiselinu u vidu dijetetskih suplemenata. Dodatno, ni kod jedne od ispitanica nije registrovana koncentracija folata u eritrocitima od 906 nmol/L koja se smatra nivoom optimalne prevencije defekata nervne cevi ploda u slučaju začeća.

Imajući u vidu potencijalne posledice neadekvatnog statusa folata na nivou opšteg zdravlja i ishoda trudnoće, a na osnovu rezultata opisane studije, evidentna je potreba za pažljivo kreiranim, efikasnim i održivim javnozdravstvenim intervencijama, kao što su edukacioni programi usmereni ka unapređenju svesti žena o značaju folata, nutritivne intervencije usmerene ka promovisanju raznovrsne, adekvatno izbalansirane ishrane uz unos potrebne količine namirnica bogatih folatima i suplementacije folnom kiselinom u ciljnoj populacionoj grupi ili kontrolisana fortifikacija odabranih životnih namirnica.

U procesu procene validnosti Upitnika o učestalosti konzumacije namirnica za procenu dijetarnog unosa folata (F-FFQ) primenjene su raznovrsne statističke tehnike i pomenuti instrument je imao konzistentno dobre rezultate.

Utvrđen je visok nivo korelacije između procenjenih vrednosti unosa folata pomoću F-FFQ-a i ponovljenih 24h anketa ishrane kao referentne metode za procenu dijetarnog unosa, a dodatno su na dobro slaganje pomenutih metoda ukazali Bland-Altman dijagrami i analiza unakrsne klasifikacije.

Triangulaciono poređenje F-FFQ-a sa 24h anketama ishrane i biomarkerima statusa folata, rezultovalo je visokim koeficijentima validacije bez obzira na to da li je u analizu uvrštena koncentracija folata u serumu, kao biomarker skorašnjeg statusa koji podleže promenama shodno tranzitornim fluktuacijama u unosu ($\rho_{QIser}=0.814$), ili koncentracija

folata u eritrocitima kao biomarker dugoročnog unosa i tkivnih zaliha ($pQI_{rbc}=0.871$). Za oba koeficijenta validacije utvrđeni su uski 95% intervali pouzdanosti, uz izostanak Heywood slučajeva što je potvrdio adekvatnost veličine uzorka i odstustvo kršenja osnovnih pretpostavki validacionog modela. Primenjena metoda trijade dala je dodatni, dragoceni uvid u performanse instrumenta i podržala zaključak o validnosti F-FFQ-a, kao prvog razvijenog upitnika o učestalosti konzumiranja namirnica za procenu dijetarnog unosa folata u Republici Srbiji.

Farmaceuti i farmaceutski tehničari zaposleni u javnim apotekama idealno su pozicionirani u zdravstvenom sistemu da promovišu perikonceptijsku suplementaciju folnom kiselinom i učestvuju u zdravstvenom prosvetivanju žena reproduktivne dobi. Njihova ekspertiza i jedinstvena dostupnost mogu imati značajnu ulogu u obezbeđivanju što većeg obuhvata pripadnica populacije od interesa. Da bi ostvarili pun potencijal koji kao deo zdravstvenog tima imaju i dali doprinos unapređenju zdravlja žena u reproduktivnom periodu, farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da raspolažu kvalitetnom bazom u formi znanja, veština i motivacije.

Uvid u dostupnu literaturu ukazuje da je sprovedena KAP studija prvo istraživanje u Republici Srbiji kojim su ispitani stavovi, znanja i praksa farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata. Kroz sagledavanje aktuelne situacije, rezultati generisani na nivou nacionalnog stratifikovanog uzorka pružaju polaznu tačku za buduća istraživanja i naučnu platformu za razmatranje mera i aktivnosti neophodnih za unapređenje praktičnog doprinosa članova farmaceutskog tima.

Za potrebe istraživanja namenski je kreiran strukturisani upitnik prilagođen ciljevima istraživanja i odabranoj profesionalnoj grupi. Instrument je razvijen na osnovu detaljnog pregleda literature uz ekpertske konsultacije. Multidisciplinarni panel stručnjaka dao je potvrdu pregledne i sadržajne validnosti, tokom pilot studije je zadovoljio kriterijume interne konzistencije, a u okviru glavne studije afirmativno su evaluirane metrijska svojstva testa znanja i faktorska struktura skale za procenu stavova. Uspešna primena na velikom

uzorku farmaceuta i farmaceutskih tehničara pružila je empirijsku verifikaciju konstrukta validnosti i ukazala na potencijalnu korisnost instrumenta za buduće studije.

U realizovanom istraživanju, kojim je obuhvaćeno 730 članova farmaceutskog tima, ispitanici su demonstrirali generalno pozitivan stav o značaju folne kiseline za prevenciju kongenitalnih anomalija i drugih neželjenih ishoda trudnoće i načelno prepoznali sopstvenu ulogu u promociji perikonceptijskog zdravlja. Međutim, rezultati su ukazali na određene propuste u znanju i dominantno reaktivnu savetodavnu praksu koji dovode do suboptimalnog iskorišćavanja strateškog potencijala javnih apoteka za zdravstvenu edukaciju ciljne populacione grupe. Kritične oblasti slabe informisanosti potvrđene su i u okviru istraživanja među studentima završne godine Farmaceutskog fakulteta. Obe grupe su, ipak, iskazale zainteresovanost za temu i spremnost za dodatnom edukacijom o ulozi i biološkom značaju folata.

Kako bi se prevazišli problemi vezani za nizak nivo samoprocenjenih kompetencija i motivacije, inicirala promena savetodavnog ponašanja i unapredile aktuelne i buduće performanse farmaceutskog tima, neophodni su pažljivo kreirani, usmereni i prilagođeni edukativni programi u okviru redovnog akademskog obrazovanja i korpusa kontinuiranog profesionalnog usavršavanja.

S tim u vezi, u okviru poslednje studije obuhvaćene disertacijom, u saradnji stručnjaka iz oblasti farmaceutske prakse i ishrane, razvijena je edukaciona intervencija namenjena farmaceutima i farmaceutskim tehničarima i sprovedna je evaluacija programa primenom pretest-posttest eksperimentalnog dizajna sa kontrolnom grupom.

Bez obzira na implementirani analitički postupak, rezultati su ukazali na značajno unapređenje postignuća ispitanika iz eksperimentalne grupe na testu znanja, a svi statistički indikatori veličine efekta implicirali su veliki uticaj sprovedene edukacije. Ostvareni rezultati na naknadnom posttestu su potvrdili dobru retenciju odnosno zadržavanje stečenog znanja i značajnu razliku u odnosu na farmaceute i farmaceutske tehničare koji su bili lišeni intervencije.

Za razliku od ispitanika iz kontrolne grupe, stavovi članova farmaceutskog tima koji su bili izloženi edukativnom programu statistički značajno su izmenjeni u pravcu boljeg sagledavanja zdravstvenih benefita perikonceptijske suplementacije folnom kiselnom i magnitude kongenitalnih anomalija u kontekstu kliničkih, humanističkih, i ekonomskih determinanti. Dodatno, u ovoj kohorti je intenzivirana percepcija profesionalne odgovornosti za sprovođenje zdravstvene edukacije i unapređena je spremnost suočavanja sa realnim izazovima i potencijalnim barijerama.

Promene u znanju i stavovima, nedvosmisleno su reflektovane na nivou subjektivno-opaženih kompetencija i objektivne savetodavne prakse farmaceuta i farmaceutskih tehničara iz eksperimentalne grupe kroz proaktivan pristup i veću učestalost pružanja relevantnih saveta i informacija o folatima tokom svakodnevnog rada u javnim apotekama.

Odabrani studijski dizajn i nacrt istraživanja su, kroz dvodimenzionalni uvid u promene na nivou znanja, stavova i prakse ispitanika (između analitičkih kohorti i u funkciji vremena), pružili epistemološki vrednu potvrdu uspešnosti realizovane intervencije.

7 LITERATURA

1. Hoffbrand A V. & Weir DG (2001) The history of folic acid. *Br. J. Haematol.* **113**, 579–589. Blackwell Science, Ltd.
2. Rosenberg IH (2012) A History of the Isolation and Identification of Folic Acid (Folate). *Ann. Nutr. Metab.* **61**, 231–235.
3. Wills L (1931) Treatment of ‘pernicious anaemia of pregnancy’ and ‘tropical anaemia’ with special reference to yeast extract as a curative agent. *Br. Med. J.* **I**, 1059–1064.
4. Wills L (1933) The nature of haemopoetic factor in marmite. *Lancet* **221**, 1283–1286. Elsevier.
5. Watson J & Castle W (1946) Nutritional macrocytic anemia, especially in pregnancy; response to a substance in liver other than that effective in pernicious anemia. *Am. J. Med. Sci.* **211**, 513–30.
6. Langston WC, Darby WJ, Shukers CF, et al. (1938) Nutritional Cytopenia (Vitamin M Deficiency) In The Monkey. *J. Exp. Med.* **68**, 923–40. The Rockefeller University Press.
7. Day PL, Langston WC & Darby WJ (1938) Failure of Nicotinic Acid to Prevent Nutritional Cytopenia in the Monkey. *Exp. Biol. Med.* **38**, 860–863. SAGE PublicationsSage UK: London, England.
8. Stokstad ELR & Manning PD V. (1938) Evidence of a New Growth Factor Required by Chicks. *J. Biol. Chem.* **125**, 687–696.
9. Hogan A & Parrott E (1940) Anemia in chicks caused by a vitamin deficiency. *J. Biol. Chem.* **132**, 507–517.
10. Mitchell HK, Snell EE & Williams RJ (1941) The concentration of ‘folic acid’. *J. Am. Chem. Soc.* **63**, 2284–2284. American Chemical Society.
11. Stokstad E (1943) Some properties of a growth factor for *Lactobacillus casei*. *J. Biol. Chem.* **149**, 573–574. American Society for Biochemistry and Molecular Biology.
12. Pfiffner J, Binkley S, Bloom E, et al. (1943) Isolation of the antianemia factor (vitamin B c) in crystalline form from liver. *Sci.* **97**, 404–405.
13. Angier RB, Boothe JH, Hutchings BL, et al. (1945) Synthesis of a compound identical with the *L. casei* factor isolated from liver. *Science (80-.)*. **102**, 227–228.
14. World Health Organization & Food and Agricultural Organization of the United Nations (2004) *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. second edi. Geneva: World Health Organization.
15. Yin S, Yang Y, Li Y, et al. (2018) Analysis of natural and synthetic folates in

- pharmaceuticals and foods: a review. *Anal. Methods* **10**, 9–21. Royal Society of Chemistry.
16. Gregory JF (1985) Chemical Changes of Vitamins during Food Processing. In *Chem. Chang. Food Dur. Process.*, pp. 373–408 [Richardson T, Finley J.W, editors]. Boston, MA: Springer US.
 17. Ball GFM (2006) Folate. In *Vitam. foods Anal. bioavailability, Stab. Anal. bioavailability, Stab.*, pp. 231–274. Boca Raton: Taylor & Francis.
 18. Hawkes JG & Villota R (1989) Folates in foods: reactivity, stability during processing, and nutritional implications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **28**, 439–538.
 19. Mahmood L (2014) The metabolic processes of folic acid and Vitamin B12 deficiency. *J. Heal. Res. Rev.* **1**, 5. Medknow Publications and Media Pvt. Ltd.
 20. Lucock M (2000) Folic acid: nutritional biochemistry, molecular biology, and role in disease processes. *Mol. Genet. Metab.* **71**, 121–138.
 21. EFSA Panel on Dietetic Products N and A (2014) Scientific Opinion on Dietary Reference Values for folate. *EFSA J.*, 3893 (59 pp.).
 22. Chango A, Emery-Fillon N, de Courcy GP, et al. (2000) A Polymorphism (80G->A) in the Reduced Folate Carrier Gene and Its Associations with Folate Status and Homocysteinemia. *Mol. Genet. Metab.* **70**, 310–315.
 23. Imbard A, Benoist J-F & Blom H (2013) Neural Tube Defects, Folic Acid and Methylation. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **10**, 4352–4389. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
 24. Stover PJ & Field MS (2011) Trafficking of Intracellular Folates. *Adv. Nutr. An Int. Rev. J.* **2**, 325–331.
 25. McEntee WJ & Crook TH (1993) Glutamate: its role in learning, memory, and the aging brain. *Psychopharmacology (Berl)*. **111**, 391–401.
 26. Howes O, McCutcheon R & Stone J (2015) Glutamate and dopamine in schizophrenia: An update for the 21st century. *J. Psychopharmacol.* **29**, 97–115 [Pratt J, editor].
 27. Abdallah CG, Jiang L, De Feyter HM, et al. (2014) Glutamate Metabolism in Major Depressive Disorder. *Am. J. Psychiatry* **171**, 1320–1327.
 28. Dietrich M, Brown CJP & Block G (2005) The effect of folate fortification of cereal-grain products on blood folate status, dietary folate intake, and dietary folate sources among adult non-supplement users in the United States. *J. Am. Coll. Nutr.* **24**, 266–74.

29. Chiang PK, Gordon RK, Tal J, et al. (1996) S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J.* **10**, 471–80.
30. Burren KA, Savery D, Massa V, et al. (2008) Gene-environment interactions in the causation of neural tube defects: folate deficiency increases susceptibility conferred by loss of Pax3 function. *Hum. Mol. Genet.* **17**, 3675–85.
31. Lanska DJ (2010) Chapter 30: historical aspects of the major neurological vitamin deficiency disorders: the water-soluble B vitamins. *Handb. Clin. Neurol.* **95**, 445–76.
32. Gurinović M, Milešević J, Kadvan A, et al. (2016) Establishment and advances in the online Serbian food and recipe data base harmonized with EuroFIR™ standards. *Food Chem.* **193**, 30–8.
33. Visentin M, Diop-Bove N, Zhao R, et al. (2014) The Intestinal Absorption of Folates. *Annu. Rev. Physiol.* **76**, 251–274.
34. Milman N (2012) Intestinal absorption of folic acid - new physiologic & molecular aspects. *Indian J. Med. Res.* **136**, 725–8. Wolters Kluwer -- Medknow Publications.
35. Halsted CH (1989) The intestinal absorption of dietary folates in health and disease. *J. Am. Coll. Nutr.* **8**, 650–658. Routledge.
36. McNulty H & Pentieva K (2004) Folate bioavailability. *Proc. Nutr. Soc.* **63**, 529–536. Cambridge University Press.
37. Caudill MA (2010) Folate bioavailability: implications for establishing dietary recommendations and optimizing status. *Am. J. Clin. Nutr.* **91**, 1455S–1460S. American Society for Nutrition.
38. Brouwer IA, van Dusseldorp M, West CE, et al. (2001) Bioavailability and bioefficacy of folate and folic acid in man. *Nutr. Res. Rev.* **14**, 267.
39. Gregory JF (2001) Case study: folate bioavailability. *J. Nutr.* **131**, 1376S–82S.
40. Gregory JF, Quinlivan EP & Davis SR (2005) Integrating the issues of folate bioavailability, intake and metabolism in the era of fortification. *Trends Food Sci. Technol.* **16**, 229–240. Elsevier.
41. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins and C (1998) *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington, D.C.: National Academies Press.
42. Bailey LB (1998) Dietary reference intakes for folate: the debut of dietary folate equivalents. *Nutr. Rev.* **56**, 294–9.

43. Sauberlich HE, Kretsch MJ, Skala JH, et al. (1987) Folate requirement and metabolism in nonpregnant women. *Am. J. Clin. Nutr.* **46**, 1016–28.
44. Medici V & Halsted CH (2013) Folate, alcohol, and liver disease. *Mol. Nutr. Food Res.* **57**, 596–606.
45. EFSA (European Food Safety Authority) (2017) Dietary reference values for nutrients: Summary report. e15121, 92 pp. EFSA supporting publication.
46. Willet W (2013) *Nutritional Epidemiology*. 40, 3rd ed. New York: Oxford University Press.
47. Brown KA, Timotijević L, Geurts M, et al. (2017) Concepts and procedures for mapping food and health research infrastructure: New insights from the EuroDISH project. *Trends Food Sci. Technol.* **63**, 113–131. Elsevier.
48. Van Stavren WA, Ocke MC, De Vries JHM, et al. (2012) Estimation of dietary intake. In *Present Knowl. Nutr.*, 10 th edit, pp. 1012–1026 [Erdman JWJ, Macdonald IA, de Vries JH, editors]. Wiley-Blackwell Publishing.
49. Gibson RS (2005) *Principles of nutritional assessment*. 2nd ed. New York: Oxford University Press.
50. Patterson P & Pietinen P (2004) Assessment of nutritional status in individuals and populations. In *Public Health Nutr.*, pp. 66–82 [Gibney MJ, Margetts BM, Kearney JM, et al., editors]. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.
51. FAO - Food and Agricultural Organization (2001) *FAO Food Balance Sheets: A Handbook*. Rome: Food and Agricultural Organization of the United Nations.
52. Serra-Majem L (2001) Food availability and consumption at national, household and individual levels: implications for food-based dietary guidelines development. *Public Health Nutr.* **4**, 673–6.
53. Shim J-S, Oh K & Kim HC (2014) Dietary assessment methods in epidemiologic studies. *Epidemiol. Health* **36**.
54. Gurinović M, Zeković M, Milešević J, et al. (2017) *Nutritional Assessment. Ref. Modul. Food Sci.* Elsevier Inc.
55. Rutishauser IHE (2005) Dietary intake measurements. *Public Health Nutr.* **8**, 1100–1107.
56. Cantwell MM, Millen AE, Carroll R, et al. (2006) A debriefing session with a nutritionist can improve dietary assessment using food diaries. *J. Nutr.* **136**, 440–5.
57. Thompson FE & Byers T (1994) Dietary assessment resource manual. *J. Nutr.* **124**, 2245S–2317S.

58. Margetts BM & Nelson M (1997) *Design Concepts in Nutritional Epidemiology*. New York: Oxford University Press.
59. Thompson FE & Subar AF (2013) Dietary Assessment Methodology. In *Nutr. Prev. Treat. Dis.*, Third edit, pp. 5–45 [Coulston AM, Boushey CJ, Ferruzzi M, editors]. Elsevier Inc.
60. Ngo J, Engelen A, Molag M, et al. (2009) A review of the use of information and communication technologies for dietary assessment. *Br. J. Nutr.* **101**, S102.
61. Illner A-K, Freisling H, Boeing H, et al. (2012) Review and evaluation of innovative technologies for measuring diet in nutritional epidemiology. *Int. J. Epidemiol.* **41**, 1187–203.
62. Fowler F & Mangione T (1990) *Standardized Survey Interviewing: Minimizing Interviewer-Related Error*. Newbury Park, CA: SAGE Publications.
63. Sanjur D (1982) Food consumption survey: issues concerning the process of data collection. In *Soc. Cult. Perspect. Nutr.*, pp. 169–194. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.
64. Slimani N, Ferrari P, Ocké M, et al. (2000) Standardization of the 24-hour diet recall calibration method used in the european prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC): general concepts and preliminary results. *Eur. J. Clin. Nutr.* **54**, 900–17.
65. Dwyer JT, Krall EA & Coleman KA (1987) The problem of memory in nutritional epidemiology research. *J. Am. Diet. Assoc.* **87**, 1509–12.
66. Krall EA, Dwyer JT, Ann Coleman K, et al. (1988) Factors influencing accuracy of dietary recall. *Nutr. Res.* **8**, 829–841. Elsevier.
67. Klesges RC, Eck LH & Ray JW (1995) Who underreports dietary intake in a dietary recall? Evidence from the Second National Health and Nutrition Examination Survey. *J. Consult. Clin. Psychol.* **63**, 438–44.
68. Blanton CA, Moshfegh AJ, Baer DJ, et al. (2006) The USDA Automated Multiple-Pass Method accurately estimates group total energy and nutrient intake. *J. Nutr.* **136**, 2594–9.
69. Souverein OW, de Boer WJ, Geelen A, et al. (2011) Uncertainty in Intake Due to Portion Size Estimation in 24-Hour Recalls Varies Between Food Groups. *J. Nutr.* **141**, 1396–1401.
70. Molag ML, de Vries JHM, Ocké MC, et al. (2007) Design characteristics of food frequency questionnaires in relation to their validity. *Am. J. Epidemiol.* **166**, 1468–78. Oxford University Press.

71. Cade JE, Burley VJ, Warm DL, et al. (2004) Food-frequency questionnaires: a review of their design, validation and utilisation. *Nutr. Res. Rev.* **17**, 5–22.
72. Cade J, Thompson R, Burley V, et al. (2002) Development, validation and utilisation of food-frequency questionnaires - a review. *Public Health Nutr.* **5**, 567–87.
73. Pérez Rodrigo C, Aranceta J, Salvador G, et al. (2015) Food Frequency Questionnaires. *Nutr Hosp. Nutr Hosp* **3131**, 49–5649.
74. Willett W & Lenart E (2013) Reproducibility and Validity of Food Frequency Questionnaires. In *Nutr. Epidemiol.*, third edit, pp. 96–141. New York: Oxford University Press.
75. Jain MG, Rohan TE, Soskolne CL, et al. (2003) Calibration of the dietary questionnaire for the Canadian Study of Diet, Lifestyle and Health cohort. *Public Health Nutr.* **6**, 79–86.
76. Shane B (2008) Folate and vitamin B12 metabolism: overview and interaction with riboflavin, vitamin B6, and polymorphisms. *Food Nutr. Bull.* **29**, S5-16–9.
77. Tsang BL, Devine OJ, Cordero AM, et al. (2015) Assessing the association between the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C>T polymorphism and blood folate concentrations: a systematic review and meta-analysis of trials and observational studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **101**, 1286–1294.
78. Haynes BMH, Pfeiffer CM, Sternberg MR, et al. (2013) Selected physiologic variables are weakly to moderately associated with 29 biomarkers of diet and nutrition, NHANES 2003-2006. *J. Nutr.* **143**, 1001S–10S.
79. Nzila A, Okombo J & Molloy AM (2014) Impact of folate supplementation on the efficacy of sulfadoxine/pyrimethamine in preventing malaria in pregnancy: the potential of 5-methyl-tetrahydrofolate. *J. Antimicrob. Chemother.* **69**, 323–30.
80. Bailey LB, Stover PJ, McNulty H, et al. (2015) Biomarkers of Nutrition for Development— Folate Review 1–5. *J. Nutr.*, 1–45.
81. Pfeiffer CM, Sternberg MR, Schleicher RL, et al. (2013) Dietary supplement use and smoking are important correlates of biomarkers of water-soluble vitamin status after adjusting for sociodemographic and lifestyle variables in a representative sample of U.S. adults. *J. Nutr.* **143**, 957S–65S.
82. Hoey L, McNulty H, Duffy ME, et al. (2013) EURRECA-Estimating folate requirements for deriving dietary reference values. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **53**, 1041–50.
83. WHO (2015) *Guideline: Optimal serum and red cell folate concentrations in women of reproductive age for prevention of neural tube defects*. Geneva: World Health Organization.

84. Yeung L, Yang Q & Berry RJ (2008) Contributions of Total Daily Intake of Folic Acid to Serum Folate Concentrations. *JAMA* **300**, 2486.
85. Pfeiffer CM, Fazili Z & Zhang M (2010) Folate Analytical Methodology. In *Folate Heal. Dis.*, 2nd ed., pp. 517–574 [Bailey LB, editor]. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
86. de Benoist B (2008) Conclusions of a WHO Technical Consultation on folate and vitamin B12 deficiencies. *Food Nutr. Bull.* **29**, S238-44.
87. WHO (2015) *Serum and Red Blood Cell Folate Concentrations for Assessing Folate Status in Populations*. *Vitam. Miner. Nutr. Inf. Syst.* Geneva: World Health Organization.
88. Baker H, Herbert V, Frank O, et al. (1959) A microbiologic method for detecting folic acid deficiency in man. *Clin. Chem.* **5**, 275–80.
89. Picciano MF (2003) Pregnancy and lactation: physiological adjustments, nutritional requirements and the role of dietary supplements. *J. Nutr.* **133**, 1997S–2002S.
90. Antony AC (2007) In utero physiology: role of folic acid in nutrient delivery and fetal development. *Am. J. Clin. Nutr.* **85**, 598S–603S.
91. Fekete K, Berti C, Trovato M, et al. (2012) Effect of folate intake on health outcomes in pregnancy: a systematic review and meta-analysis on birth weight, placental weight and length of gestation. *Nutr. J.* **11**, 75. BioMed Central.
92. Solanky N, Requena Jimenez A, D’Souza SW, et al. (2010) Expression of folate transporters in human placenta and implications for homocysteine metabolism. *Placenta* **31**, 134–43.
93. Molloy AM, Kirke PN, Brody LC, et al. (2008) Effects of Folate and Vitamin B12 Deficiencies During Pregnancy on Fetal, Infant, and Child Development. *Food Nutr. Bull.* **29**, S101–S111.
94. Safi J, Joyeux L, Chalouhi GE, et al. (2012) Periconceptional Folate Deficiency and Implications in Neural Tube Defects. *J. Pregnancy* **2012**, 1–9. Hindawi Publishing Corporation.
95. Baumslag N, Edelstein T & Metz J (1970) Reduction of incidence of prematurity by folic acid supplementation in pregnancy. *Br. Med. J.* **1**, 16–7.
96. Lassi ZS, Salam RA, Haider BA, et al. (2013) Folic acid supplementation during pregnancy for maternal health and pregnancy outcomes. *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD006896.
97. Frelut ML, de Courcy GP, Christidès JP, et al. (1995) Relationship between maternal folate status and foetal hypotrophy in a population with a good socio-economical

- level. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **65**, 267–71.
98. Ek J (1982) Plasma and red cell folate in mothers and infants in normal pregnancies. Relation to birth weight. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **61**, 17–20.
 99. Goldenberg RL, Tamura T, Cliver SP, et al. (1992) Serum folate and fetal growth retardation: a matter of compliance? *Obstet. Gynecol.* **79**, 719–22.
 100. Tamura T, Goldenberg RL, Freeberg LE, et al. (1992) Maternal serum folate and zinc concentrations and their relationships to pregnancy outcome. *Am. J. Clin. Nutr.* **56**, 365–70.
 101. Nygren-Babol L & Jägerstad M (2012) Folate-Binding Protein in Milk: A Review of Biochemistry, Physiology, and Analytical Methods. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **52**, 410–425.
 102. Tamura T & Picciano MF (2006) Folate and human reproduction. *Am. J. Clin. Nutr.* **83**, 993–1016. Oxford University Press.
 103. Smith AM, Picciano MF & Deering RH (1985) Folate intake and blood concentrations of term infants. *Am. J. Clin. Nutr.* **41**, 590–8.
 104. Picciano MF, West SG, Ruch AL, et al. (2004) Effect of cow milk on food folate bioavailability in young women. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 1565–9.
 105. Selhub J (1989) Determination of tissue folate composition by affinity chromatography followed by high-pressure ion pair liquid chromatography. *Anal. Biochem.* **182**, 84–93.
 106. O'Connor DL, Tamura T & Picciano MF (1991) Pteroylpolyglutamates in human milk. *Am. J. Clin. Nutr.* **53**, 930–4.
 107. Brown CM, Smith AM & Picciano MF (1986) Forms of human milk folacin and variation patterns. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **5**, 278–82.
 108. Smith AM, Picciano MF & Deering RH (1983) Folate supplementation during lactation: maternal folate status, human milk folate content, and their relationship to infant folate status. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* **2**, 622–8.
 109. Mackey AD & Picciano MF (1999) Maternal folate status during extended lactation and the effect of supplemental folic acid. *Am. J. Clin. Nutr.* **69**, 285–92.
 110. Di Sabatino A & Corazza GR (2009) Coeliac disease. *Lancet* **373**, 1480–1493.
 111. Green PH & Jabri B (2003) Coeliac disease. *Lancet* **362**, 383–391.
 112. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, et al. (2013) ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am. J. Gastroenterol.* **108**, 656–76; quiz 677.

113. Hallert C, Svensson M, Tholstrup J, et al. (2009) Clinical trial: B vitamins improve health in patients with coeliac disease living on a gluten-free diet. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **29**, 811–816.
114. Hallert C, Grant C, Grehn S, et al. (2002) Evidence of poor vitamin status in coeliac patients on a gluten-free diet for 10 years. *Aliment. Pharmacol. Ther.* **16**, 1333–9.
115. Ghishan FK & Kiela PR (2017) Vitamins and Minerals in Inflammatory Bowel Disease. *Gastroenterol. Clin. North Am.* **46**, 797–808.
116. Chowers Y, Sela BA, Holland R, et al. (2000) Increased levels of homocysteine in patients with Crohn's disease are related to folate levels. *Am. J. Gastroenterol.* **95**, 3498–502.
117. Weisshof R & Chermesh I (2015) Micronutrient deficiencies in inflammatory bowel disease. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **18**, 576–581.
118. Gisondi P, Fantuzzi F, Malerba M, et al. (2007) Folic acid in general medicine and dermatology. *J. Dermatolog. Treat.* **18**, 138–146.
119. Locatelli F, Fouque D, Heimbürger O, et al. (2002) Nutritional status in dialysis patients: a European consensus. *Nephrol. Dial. Transplant* **17**, 563–72.
120. Teschner M, Kosch M & Schaefer RM (2002) Folate metabolism in renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant* **17 Suppl 5**, 24–7.
121. Halsted CH, Villanueva JA & Devlin AM (2002) Folate deficiency, methionine metabolism, and alcoholic liver disease. *Alcohol* **27**, 169–72.
122. Wani NA, Hamid A & Kaur J (2008) Folate status in various pathophysiological conditions. *IUBMB Life* **60**, 834–842.
123. Hamid A, Wani NA & Kaur J (2009) New perspectives on folate transport in relation to alcoholism-induced folate malabsorption - association with epigenome stability and cancer development. *FEBS J.* **276**, 2175–2191.
124. Field MS, Kamynina E, Watkins D, et al. (2015) Human mutations in methylenetetrahydrofolate dehydrogenase 1 impair nuclear de novo thymidylate biosynthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **112**, 400–405.
125. Watkins D & Rosenblatt DS (2012) Update and new concepts in vitamin responsive disorders of folate transport and metabolism. *J. Inherit. Metab. Dis.* **35**, 665–70.
126. Burda P, Kuster A, Hjalmarson O, et al. (2015) Characterization and review of MTHFD1 deficiency: four new patients, cellular delineation and response to folic and folinic acid treatment. *J. Inherit. Metab. Dis.* **38**, 863–872.
127. Ramakrishnan KA, Pengelly RJ, Gao Y, et al. (2016) Precision Molecular Diagnosis

- Defines Specific Therapy in Combined Immunodeficiency with Megaloblastic Anemia Secondary to MTHFD1 Deficiency. *J. Allergy Clin. Immunol. Pract.* **4**, 1160–1166.e10.
128. Ramaekers V, Sequeira JM & Quadros E V. (2013) Clinical recognition and aspects of the cerebral folate deficiency syndromes. *Clin. Chem. Lab. Med.* **51**, 497–511.
 129. Hyland K, Shoffner J & Heales SJ (2010) Cerebral folate deficiency. *J. Inherit. Metab. Dis.* **33**, 563–570.
 130. Chanarin I (1970) Folate deficiency in the myeloproliferative disorders. *Am. J. Clin. Nutr.* **23**, 855–60.
 131. Faurschou M, Nielsen OJ, Jensen MK, et al. (2000) High prevalence of hyperhomocysteinemia due to marginal deficiency of cobalamin or folate in chronic myeloproliferative disorders. *Am. J. Hematol.* **65**, 136–40.
 132. Joseph R, Bockorny B & Dasanu CA (2014) Methotrexate therapy leading to a rapid progression of a previously indolent prostate cancer: is immunosuppression to blame? *J. Oncol. Pharm. Pract.* **20**, 149–53.
 133. Shinde CG, Venkatesh MP, Kumar TMP, et al. (2014) Methotrexate: A Gold Standard for Treatment of Rheumatoid Arthritis. *J. Pain Palliat. Care Pharmacother.* **28**, 351–358.
 134. Goodman SM, Cronstein BN & Bykerk VP (2015) Outcomes related to methotrexate dose and route of administration in patients with rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Clin. Exp. Rheumatol.* **33**, 272–8.
 135. Papadopoulou C, Kostik M, Böhm M, et al. (2013) Methotrexate Therapy May Prevent the Onset of Uveitis in Juvenile Idiopathic Arthritis. *J. Pediatr.* **163**, 879–884.
 136. Prey S & Paul C (2009) Effect of folic or folinic acid supplementation on methotrexate-associated safety and efficacy in inflammatory disease: a systematic review. *Br. J. Dermatol.* **160**, 622–628.
 137. Shea B, Swinden M V, Tanjong Ghogomu E, et al. (2013) Folic acid and folinic acid for reducing side effects in patients receiving methotrexate for rheumatoid arthritis. *Cochrane Database Syst. Rev.*, CD000951.
 138. Stargrove MB, Treasure J & McKee DL (2008) Folic acid. In *Herb, Nutr. drug Interact. Clin. Implic. Ther. Strateg.*, pp. 186–234. Mosby Elsevier.
 139. Robien K (2005) Folate During Antifolate Chemotherapy: What We Know... and Do Not Know. *Nutr. Clin. Pract.* **20**, 411–422.
 140. Moulik NR & Kumar A (2014) Are concerns about folic acid supplementation in

children with acute lymphoblastic leukemia justified? *Indian Pediatr.* **51**, 754–5.

141. Ootom S, Bakhiet M, Khan A, et al. Prolonged use of phenytoin, carbamazepine or valproate monotherapy on plasma levels of folate and B(12): a comparison between epileptic patients with or without cardiovascular disorders. *Neuro Endocrinol. Lett.* **27**, 85–8.
142. Kishi T, Fujita N, Eguchi T, et al. (1997) Mechanism for reduction of serum folate by antiepileptic drugs during prolonged therapy. *J. Neurol. Sci.* **145**, 109–12.
143. Tomson T & Battino D (2009) Teratogenic Effects of Antiepileptic Medications. *Neurol. Clin.* **27**, 993–1002.
144. Eadie MJ (2008) Antiepileptic drugs as human teratogens. *Expert Opin. Drug Saf.* **7**, 195–209.
145. Leonard JP, Desager JP, Beckers C, et al. (1979) In vitro binding of various biological substances by two hypocholesterolaemic resins. Cholestyramine and colestipol. *Arzneimittelforschung.* **29**, 979–81.
146. Hoppner K & Lampi B (1991) Bioavailability of folate following ingestion of cholestyramine in the rat. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **61**, 130–4.
147. Desouza C, Keebler M, McNamara DB, et al. (2002) Drugs affecting homocysteine metabolism: impact on cardiovascular risk. *Drugs* **62**, 605–16.
148. Dierkes J, Luley C & Westphal S (2007) Effect of lipid-lowering and anti-hypertensive drugs on plasma homocysteine levels. *Vasc. Health Risk Manag.* **3**, 99–108.
149. Koury MJ & Horne DW (1994) Apoptosis mediates and thymidine prevents erythroblast destruction in folate deficiency anemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **91**, 4067–71.
150. Melenovsky V, Stulc T, Kozich V, et al. (2003) Effect of folic acid on fenofibrate-induced elevation of homocysteine and cysteine. *Am. Heart J.* **146**, 110A–115A.
151. Stulc T, Melenovský V, Grauová B, et al. (2001) Folate supplementation prevents plasma homocysteine increase after fenofibrate therapy. *Nutrition* **17**, 721–3.
152. Ntaios G, Savopoulos C, Chatzopoulos S, et al. (2011) Iatrogenic hyperhomocysteinemia in patients with metabolic syndrome: a systematic review and metaanalysis. *Atherosclerosis* **214**, 11–9.
153. Baggott JE, Morgan SL, Ha T, et al. (1992) Inhibition of folate-dependent enzymes by non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Biochem. J.* **282** (Pt 1), 197–202.
154. Qin X, Huo Y, Xie D, et al. (2013) Homocysteine-lowering therapy with folic acid is

- effective in cardiovascular disease prevention in patients with kidney disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Clin. Nutr.* **32**, 722–727.
155. Li Y, Huang T, Zheng Y, et al. (2016) Folic Acid Supplementation and the Risk of Cardiovascular Diseases: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J. Am. Heart Assoc.* **5**, e003768.
 156. Russell RM, Golner BB, Krasinski SD, et al. (1988) Effect of antacid and H₂ receptor antagonists on the intestinal absorption of folic acid. *J. Lab. Clin. Med.* **112**, 458–63.
 157. Fava M & Mischoulon D (2009) Folate in Depression. *J. Clin. Psychiatry* **70**, 12–17.
 158. Miller AL (2008) The methylation, neurotransmitter, and antioxidant connections between folate and depression. *Altern. Med. Rev.* **13**, 216–26.
 159. Coppen A & Bolander-Gouaille C (2005) Treatment of depression: time to consider folic acid and vitamin B12. *J. Psychopharmacol.* **19**, 59–65.
 160. De Long NE, Hyslop JR, Raha S, et al. (2014) Fluoxetine-induced pancreatic beta cell dysfunction: New insight into the benefits of folic acid in the treatment of depression. *J. Affect. Disord.* **166**, 6–13.
 161. Ravindran A V., Balneaves LG, Faulkner G, et al. (2016) Canadian Network for Mood and Anxiety Treatments (CANMAT) 2016 - Clinical Guidelines for the Management of Adults with Major Depressive Disorder. *Can. J. Psychiatry* **61**, 576–587.
 162. Coppen A & Bailey J (2000) Enhancement of the antidepressant action of fluoxetine by folic acid: a randomised, placebo controlled trial. *J. Affect. Disord.* **60**, 121–30.
 163. Cameron SJ & Horne NW (1971) The effect of tuberculosis and its treatment on erythropoiesis and folate activity. *Tubercle* **52**, 37–48.
 164. Klipstein FA, Berlinger FC & Reed LJ (1967) Folate deficiency associated with drug therapy for tuberculosis. *Blood* **29**, 697–712.
 165. Zimmerman J, Selhub J & Rosenberg IH (1986) Competitive inhibition of folic acid absorption in rat jejunum by triamterene. *J. Lab. Clin. Med.* **108**, 272–6.
 166. Leopold JA & Loscalzo J (2003) Organic nitrate tolerance and endothelial dysfunction: role of folate therapy. *Minerva Cardioangiol.* **51**, 349–59.
 167. Bellisarii FI, Gallina S, Zimarino M, et al. (2003) Mechanisms of nitrate tolerance: potential roles of folate. *Eur. J. Clin. Invest.* **33**, 933–40.
 168. Gori T, Burstein JM, Ahmed S, et al. (2001) Folic acid prevents nitroglycerin-induced nitric oxide synthase dysfunction and nitrate tolerance: a human in vivo

- study. *Circulation* **104**, 1119–23.
169. Gori T, Saunders L, Ahmed S, et al. (2003) Effect of folic acid on nitrate tolerance in healthy volunteers: differences between arterial and venous circulation. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* **41**, 185–90.
 170. Green R & Datta Mitra A (2017) Megaloblastic Anemias: Nutritional and Other Causes. *Med. Clin. North Am.* **101**, 297–317.
 171. Wickramasinghe SN (2006) Diagnosis of megaloblastic anaemias. *Blood Rev.* **20**, 299–318.
 172. Herbert V (1962) Experimental nutritional folate deficiency in man. *Trans. Assoc. Am. Physicians* **75**, 307–20.
 173. Golding P (2014) Severe experimental folate deficiency in a human subject – a longitudinal study of biochemical and haematological responses as megaloblastic anaemia develops. *Springerplus* **3**, 442.
 174. Rondanelli EG, Gorini P, Magliulo E, et al. (1964) Differences in Proliferative Activity between Normoblasts and Pernicious Anemia Megaloblasts. *Blood* **24**.
 175. Fernandes-Costa FJ, Green R & Torrance JD (1978) Increased erythrocytic diphosphoglycerate in megaloblastic anaemia. A compensatory mechanism? *S. Afr. Med. J.* **53**, 709–12.
 176. Meadows ME, Kaplan RF & Bromfield EB (1994) Cognitive recovery with vitamin B12 therapy: a longitudinal neuropsychological assessment. *Neurology* **44**, 1764–5.
 177. Vilter CF, Vilter RW & Spies TD (1947) The treatment of pernicious and related anemias with synthetic folic acid; observations on the maintenance of a normal hematologic status and on the occurrence of combined system disease at the end of one year. *J. Lab. Clin. Med.* **32**, 262–73.
 178. Wallis D, Ballard JL, Shaw GM, et al. (2010) Folate-Related Birth Defects Embryonic Consequences of Abnormal Folate Transport and Metabolism. In *Folate Heal. Dis.*, 2nd ed., pp. 155–178 [Bailey LB, editor]. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
 179. Czeizel AE, Dudás I, Vereczkey A, et al. (2013) Folate deficiency and folic acid supplementation: The prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. *Nutrients* **5**, 4760–4775.
 180. Dolk H & EUROCAT Project Management Committee (2009) What is the ‘primary’ prevention of congenital anomalies? *Lancet* **374**, 378.
 181. Obeid R, Pietrzik K, Oakley GP, et al. (2015) Preventable spina bifida and anencephaly in Europe. *Birth Defects Res. Part A Clin. Mol. Teratol.* **103**, 763–771.

182. World Health Organization. Regional Office for Europe (2016) Good maternal nutrition: the best start in life. 85 pp. Copenhagen, Denmark: WHO Regional Office for Europe.
183. Gomes S, Lopes C & Pinto E (2015) Folate and folic acid in the periconceptional period: recommendations from official health organizations in thirty-six countries worldwide and WHO. *Public Health Nutr.*, 1–14.
184. Blencowe H, Cousens S, Modell B, et al. (2010) Folic acid to reduce neonatal mortality from neural tube disorders. *Int. J. Epidemiol.* **39**, i110–i121.
185. Zaganjor I, Sekkarie A, Tsang BL, et al. (2016) Describing the prevalence of neural tube defects worldwide: A systematic literature review. *PLoS One* **11**.
186. Botto LD, Moore CA, Khoury MJ, et al. (1999) Neural-Tube Defects. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1509–1519.
187. Blom HJ (2009) Folic acid, methylation and neural tube closure in humans. *Birth Defects Res. Part A - Clin. Mol. Teratol.* **85**, 295–302.
188. Czeizel AE, Dudás I, Vereczkey A, et al. (2013) Folate deficiency and folic acid supplementation: the prevention of neural-tube defects and congenital heart defects. *Nutrients* **5**, 4760–75. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
189. Bannister CM, Russell SA, Rimmer S, et al. (2000) Can prognostic indicators be identified in a fetus with an encephalocele? *Eur. J. Pediatr. Surg.* **10 Suppl 1**, 20–3.
190. CDC C for DC and P- Birth Defects Surveillance Toolkit. Congenital malformations of the nervous system: neural tube defects. Photo Atlas. .
191. Hibbard BM (1964) The Role of Folic Acid in Pregnancy; with particular reference to anaemia, abruption and abortion. *J. Obstet. Gynaecol. Br. Commonw.* **71**, 529–42.
192. Smithells RW, Sheppard S & Schorah CJ (1976) Vitamin deficiencies and neural tube defects. *Arch. Dis. Child.* **51**, 944–50.
193. Smithells RW, Sheppard S, Schorah CJ, et al. (1980) Possible prevention of neural-tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *Lancet (London, England)* **1**, 339–40.
194. Laurence KM, James N, Miller MH, et al. (1981) Double-blind randomised controlled trial of folate treatment before conception to prevent recurrence of neural-tube defects. *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed).* **282**, 1509–11. BMJ Publishing Group.
195. MRC Vitamin Study Research Group (1991) Prevention of neural tube defects: results of the Medical Research Council Vitamin Study. *Lancet (London, England)* **338**, 131–7.

196. Czeizel AE & Dudás I (1992) Prevention of the First Occurrence of Neural-Tube Defects by Periconceptional Vitamin Supplementation. *N. Engl. J. Med.* **327**, 1832–1835. Massachusetts Medical Society .
197. Berry RJ, Li Z, Erickson JD, et al. (1999) Prevention of Neural-Tube Defects with Folic Acid in China. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1485–1490.
198. De-Regil LM, Fernández-Gaxiola AC, Dowswell T, et al. (2010) Effects and safety of periconceptional folate supplementation for preventing birth defects. In *Cochrane Database Syst. Rev.*, p. CD007950 [De-Regil LM, editor]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.
199. De-Regil LM, Peña-Rosas JP, Abalo, Fernández-Gaxiola AC, et al. (2015) Effects and safety of periconceptional oral folate supplementation for preventing birth defects. *Cochrane database Syst. Rev.* **12**, CD007950.
200. Centers for Disease Control (CDC) (1991) Use of folic acid for prevention of spina bifida and other neural tube defects--1983-1991. *MMWR. Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **40**, 513–6.
201. Centers for Disease Control and Prevention - CDC (1992) Recommendations for the use of folic acid to reduce the number of cases of spina bifida and other neural tube defects. *MMWR. Recomm. reports Morb. Mortal. Wkly. report. Recomm. reports* **41**, 1–7.
202. World Health Organization (2007) *Standardds for Maternal and Neonatal Care*. Geneva, Switzerland: .
203. World Health Organization (2009) *Weekly Iron-Folic Acid Supplementation (WIFS) in Women of Reproductive Age: Its Role in Promoting Optimal Maternal and Child Health*. Geneva: World Health Organization.
204. World Health Organization (2012) *Guideline: Daily Iron and Folic Acid Supplementation in Pregnant Women*. Geneva: .
205. World Health Organization (2013) *Improving Maternal, Newborn, Infant and Young Child Health and Nutrition. Essent. Nutr. Actions*. Geneva: World Health Organization.
206. FAO & WHO (2014) *Rome Declaration on Nutrition, Second International Conference on Nutrition*. Rome: .
207. Every women every child (2015) *Global Strategy for Women's, Children's and Adolescents Health 2016-2030*. New York: United Nations.
208. Eichholzer M, Tönz O & Zimmermann R (2006) Folic acid: a public-health challenge. *Lancet* **367**, 1352–1361.

209. World Health Organization (2016) WHO recommendations on antenatal care for a positive pregnancy experience. 152 pp. Geneva, Switzerland: World Health Organization.
210. Ray JG, Singh G & Burrows RF (2004) Evidence for suboptimal use of periconceptional folic acid supplements globally. *BJOG An Int. J. Obstet. Gynaecol.* **111**, 399–408.
211. Crider KS, Bailey LB & Berry RJ (2011) Folic acid food fortification-its history, effect, concerns, and future directions. *Nutrients* **3**, 370–384.
212. McNulty H (2017) The Role of Food Fortification: The Example of Folic Acid. In *Sustain. Nutr. a Chang. World*, pp. 371–388. Cham: Springer International Publishing.
213. Berry RJ, Mulinare J & Hamner HC (2010) Folic Acid Fortification: Neural Tube Defect Risk Reduction—A Global Perspective. In *Folate Heal. Dis.*, 2nd ed., pp. 179–204 [Bailey LB, editor]. Boca Raton: CRC Press, Taylor & Francis Group.
214. US Food and Drug Administration (1996) Food standards: amendment of standards of identity for enriched grain products to require addition of folic acid. *Fed. Regist.*, 21 CFR Parts 136, 137, and 139, 61:8781–8789.
215. Food Fortification Initiative (FFI) (2017) Global Progress. *Mandat. Cereal Grain Legis.*
216. World Health Organization (2013) Meeting to Develop a Global Consensus on Preconception Care to Reduce Maternal and Childhood Mortality and Morbidity. 67 p. Geneva, Switzerland: .
217. DiPietro Mager NA (2016) Fulfilling an Unmet Need: Roles for Clinical Pharmacists in Preconception Care. *Pharmacother. J. Hum. Pharmacol. Drug Ther.* **36**, 141–151.
218. FIP (2013) FIP Statement of Policy: The Effective Utilization of Pharmacists in Improving Maternal, Newborn and Child Health (MNCH). 1–7.
219. World Health Organization (2008) European strategic approach for making pregnancy safer: Improving maternal and perinatal health. 1–41. Copenhagen, Denmark: .
220. International Pharmaceutical Federation (FIP) and World Health Organization (WHO) (2011) Joint FIP/WHO guidelines on good Pharmacy Practice: standards For quality of Pharmacy services. *WHO Tech. Rep. Ser. No. 961*. Geneva: World Health Organization.
221. Meijer WM, de Smit DJ, Jurgens RA, et al. (2004) Pharmacists' role in improving awareness about folic acid: a pilot study on the process of introducing an intervention in pharmacy practice. *Int. J. Pharm. Pract.* **12**, 29–35. Blackwell

Publishing Ltd.

222. Anderson C & Rajyaguru R (2002) The role of community pharmacists and medicines counter assistants in health promotion: reflections from a folic acid campaign. *Int. J. Pharm. Pract.* **10**, 17–22. Blackwell Publishing Ltd.
223. Ocké MC & Kaaks RJ (1997) Biochemical markers as additional measurements in dietary validity studies: application of the method of triads with examples from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 1240S–1245S. American Society for Nutrition.
224. Kaaks RJ (1997) Biochemical markers as additional measurements in studies of the accuracy of dietary questionnaire measurements: conceptual issues. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 1232S–1239S. American Society for Nutrition.
225. Potischman N (2003) Biologic and methodologic issues for nutritional biomarkers. *J. Nutr.* **133 Suppl**, 875S–880S.
226. Ito CMK, Tiene De Carvalho Yokota R, Miyazaki ES, et al. (2010) Applying the triads method in the validation of dietary intake using biomarkers. *Cad. Saude Publica* **26**, 2027–2037.
227. WHO (2000) *Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Heal. Organ. - Tech. Rep. Ser. 894*. Geneva: World Health Organization.
228. Barić IC, Šatalić Z, Keser I, et al. (2009) Validation of the folate food frequency questionnaire with serum and erythrocyte folate and plasma homocysteine. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **60**, 10–18.
229. Block G & Subar AF (1992) Estimates of nutrient intake from a food frequency questionnaire: the 1987 National Health Interview Survey. *J. Am. Diet. Assoc.* **92**, 969–977.
230. Gurinovic M, Milešević J, Kadvan A, et al. (2015) Advances in capacity development by applying Diet Asses Plan-DAP platform and tools for public health nutrition research and policies implementation in Balkan region. In *11th Int. Food Data Conf. (IFDC), Food Compos. Public Heal. Nutr.*, p. 105 [Longvah T, editor]. Hyderabad, India: National Institute of Nutrition.
231. Gurinović M, Milešević J, Kadvan A, et al. (2018) Development, features and application of DIET ASSESS & PLAN (DAP) software in supporting public health nutrition research in Central Eastern European Countries (CEEC). *Food Chem.* **238**, 186–194.
232. Gavrieli A, Naska A, Konstantinidi C, et al. (2014) Dietary Monitoring Tools for Risk Assessment. *EFSA Support. Publ.* **11**.

233. Gurinović M, Milešević J, Novaković R, et al. (2016) Improving nutrition surveillance and public health research in Central and Eastern Europe/Balkan Countries using the Balkan Food Platform and dietary tools. *Food Chem.* **193**, 173–80.
234. Serra-Majem L, Frost Andersen L, Henríque-Sánchez P, et al. (2009) Evaluating the quality of dietary intake validation studies. *Br. J. Nutr.* **102**, S3-9.
235. Verkleij-Hagoort AC, de Vries JHM, Stegers MPG, et al. (2007) Validation of the assessment of folate and vitamin B12 intake in women of reproductive age: the method of triads. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**, 610–5.
236. Pufulete M, Emery PW, Nelson M, et al. (2002) Validation of a short food frequency questionnaire to assess folate intake. *Br. J. Nutr.* **87**, 383–90.
237. Djekic-Ivankovic M, Weiler H a, Nikolic M, et al. (2015) Validity of an FFQ assessing the vitamin D intake of young Serbian women living in a region without food fortification: the method of triads model. *Public Health Nutr.* **19**, 1–9.
238. McNaughton S a, Marks GC, Gaffney P, et al. (2005) Validation of a food-frequency questionnaire assessment of carotenoid and vitamin E intake using weighed food records and plasma biomarkers: the method of triads model. *Eur. J. Clin. Nutr.* **59**, 211–218.
239. Abbott Laboratoires (2010) *Operator Manual ARCHITECT i2000 SR Abbott Diagnostic Folate*. Abbott Park, IL 60064 USA: Abbott Laboratories.
240. Willett WC, Howe GR & Kushi LH (1997) Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 1220S–1228S; discussion 1229S–1231S. American Society for Nutrition.
241. Van Belle G, Fisher LD, Heagerty PJ, et al. (2004) Descriptive Statistics. In *Biostat. A Methodol. Heal. Sci.*, 2nd Editio, pp. 25–61. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
242. Kabagambe EK, Baylin A, Allan DA, et al. (2001) Application of the method of triads to evaluate the performance of food frequency questionnaires and biomarkers as indicators of long-term dietary intake. *Am. J. Epidemiol.* **154**, 1126–1135.
243. R Development Core Team (2014) *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
244. Krejcie R & Daryle M (1970) Determining sample size for research activities. *Educ. Psychol. Meas.* **30**, 607–610.
245. Sakpal TV (2010) Sample size estimation in clinical trial. *Perspect. Clin. Res.* **1**, 67–9. Medknow Publications.

246. Službeni glasnik RS 42/2006, 119/2007, 84/2008, 71/2009, 85/2009, 24/2010, 6/2012, 37/2012 8/2014 i 92/2015. *Uredba o planu mreže zdravstvenih ustanova.* .
247. Republički fond za zdravstveno osiguranje (2016) *Spisak privatnih apoteka i njihovih ogranaka sa kojim je RFZO sklopio ugovore.* .
248. Bolarinwa OA (2015) Principles and methods of validity and reliability testing of questionnaires used in social and health science researches. *Niger. Postgrad. Med. J.* **22**, 195–201. Medknow Publications and Media Pvt. Ltd.
249. Cronbach LJ (1951) Coefficient alpha and the internal structure of tests. *Psychometrika* **16**, 297–334. Springer-Verlag.
250. Tabachnick BG & Fidell LS (2007) *Using multivariate statistics*. 5th ed. Boston, MA: Allyn & Bacon/Pearson Education.
251. Rofail D, Colligs A, Abetz L, et al. (2012) Factors contributing to the success of folic acid public health campaigns. *J. Public Health (Bangkok)*. **34**, 90–99.
252. Rosenstock IM Enhancing patient compliance with health recommendations. *J. Pediatr. Health Care* **2**, 67–72.
253. Helinski DT, Trauth JM, Jernigan JC, et al. (2004) Describing a folic acid intervention for health care providers: implications for professional practice and continuing education. *Health Promot. Pract.* **5**, 326–33.
254. World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean (2012) *Health education : theoretical concepts, effective strategies and core competencies*. Cairo: World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean.
255. Dimitrov DM & Rumrill PD (2003) Pretest-posttest designs and measurement of change. *Work* **20**, 159–165.
256. Carlson K & Schmidt F (1999) Impact of Experimental Design on Effect Size: Findings From the Research Literature on Training. *J. Appl. Psychol.* **84**, 851–862.
257. Morris SB (2008) Estimating Effect Sizes From Pretest-Posttest-Control Group Designs. *Organ. Res. Methods* **11**, 364–386.
258. Dunlap WP, Cortina JM, Vaslow JB, et al. (1996) Meta-analysis of experiments with matched groups or repeated measures designs. *Psychol. Methods* **1**, 170–177.
259. Morris SB & DeShon RP (2002) Combining effect size estimates in meta-analysis with repeated measures and independent-groups designs. *Psychol. Methods* **7**, 105–25.
260. Cohen J (1988) *Statistical power analysis for the behavioral sciences* (2. Auflage). Hillsdale, NJ: Erlbaum.

261. Field A (2005) Analysis of Covariance, ANCOVA (GLM 2). In *Discov. Stat. Using SPSS Wind.*, 2nd ed., pp. 363–388. SAGE Publications.
262. Macias YF & Glasauer P (2014) Guidelines for assessing nutrition-related Knowledge, Attitudes and Practices manual. *Food Agric. Organ. United Nations*, 1–180. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
263. World Health Organization (2011) *Standards and operational guidance for ethics review of health-related research with human participants*. Geneva, Switzerland: WHO.
264. McNulty H & Scott JM (2008) Intake and status of folate and related B-vitamins: considerations and challenges in achieving optimal status. *Br. J. Nutr.* **99 Suppl 3**, S48-54.
265. Rippin H, Hutchinson J, Jewell J, et al. (2017) Adult Nutrient Intakes from Current National Dietary Surveys of European Populations. *Nutrients* **9**, 1288. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
266. Novaković R, Cavelaars AE, Bekkering GE, et al. (2013) Micronutrient intake and status in Central and Eastern Europe compared with other European countries, results from the EURRECA network. *Public Health Nutr.* **16**, 824–840.
267. Mensink G, Fletcher R, Gurinovic M, et al. (2013) Mapping low intake of micronutrients across Europe. *Br. J. Nutr.* **110**, 755–73.
268. Gurinović M, Kadvan A & Vukotić M (2011) The quality of nutrition in schoolchildren and adult members of families. In *Monogr. Yugosl. study Atheroscler. precursors Sch. Serbia twenty years Follow.*, pp. 343–368 [Nedeljkovic S, editor]. Medical Faculty University of Belgrade.
269. Johansson I, Van Guelpen B, Hultdin J, et al. (2010) Validity of food frequency questionnaire estimated intakes of folate and other B vitamins in a region without folic acid fortification. *Eur. J. Clin. Nutr.* **64**, 905–913. Nature Publishing Group.
270. Agodi A, Barchitta M, Quattrocchi A, et al. (2014) Folate deficiency is not associated with increased mitochondrial genomic instability: results from dietary intake and lymphocytic mtDNA 4977-bp deletion in healthy young women in Italy. *Mutagenesis* **29**, 101–6. Oxford University Press.
271. Brevik A, Vollset SE, Tell GS, et al. (2005) Plasma concentration of folate as a biomarker for the intake of fruit and vegetables: the Hordaland Homocysteine Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **81**, 434–9.
272. Waśkiewicz A, Sygnowska E & Broda G (2010) Dietary intake of vitamins B6, B12 and folate in relation to homocysteine serum concentration in the adult Polish population - WOBASZ Project. *Kardiol. Pol.* **68**, 275–82.

273. Alfthan G, Laurinen MS, Valsta LM, et al. (2003) Folate intake, plasma folate and homocysteine status in a random Finnish population. *Eur. J. Clin. Nutr.* **57**, 81–8.
274. Manios Y, Moschonis G, Mavrogianni C, et al. (2014) Micronutrient intakes among children and adults in Greece: the role of age, sex and socio-economic status. *Nutrients* **6**, 4073–92. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI).
275. Elmadfa I & Meyer AL (2012) *Austrian nutrition report 2012*. Vienna: Federal Ministry of Health, University of Vienna, Institute of Nutritional Sciences.
276. Planells E, Sánchez C, Montellano MA, et al. (2003) Vitamins B6 and B12 and folate status in an adult Mediterranean population. *Eur. J. Clin. Nutr.* **57**, 777–785. Nature Publishing Group.
277. Park JY, Nicolas G, Freisling H, et al. (2012) Comparison of standardised dietary folate intake across ten countries participating in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Br. J. Nutr.* **108**, 552–69.
278. McNulty H & Scott JM Intake and status of folate and related B-vitamins: considerations and challenges in achieving optimal status. .
279. Elmadfa I, Meyer A, Nowak V, et al. (2009) European Nutrition and Health Report 2009. *Forum Nutr.* **62**, 1–405.
280. Odalovic M, Vezmar Kovacevic S, Ilic K, et al. (2012) Drug use before and during pregnancy in Serbia. *Int. J. Clin. Pharm.* **34**, 719–27.
281. Pauwels S, Doperé I, Huybrechts I, et al. (2015) Reproducibility and validity of an FFQ to assess usual intake of methyl-group donors. *Public Health Nutr.* **18**, 2530–9.
282. Jackson MD, Walker SP, Younger NM, et al. (2011) Use of a food frequency questionnaire to assess diets of Jamaican adults: validation and correlation with biomarkers. *Nutr. J.* **10**, 28.
283. French MR, Langdon C & Levy-Milne R (2001) Development of a validated food frequency questionnaire to determine folate intake. *Can. J. Diet. Pract. Res. a Publ. Dietitians Canada = Rev. Can. la Prat. la Rech. en diététique une Publ. des Diététistes du Canada* **62**, 82–6.
284. Coathup V, Wheeler S & Smith L (2015) A method comparison of a food frequency questionnaire to measure folate, choline, betaine, vitamin C and carotenoids with 24-h dietary recalls in women of reproductive age. *Eur. J. Clin. Nutr.* **70**, 1–6. Nature Publishing Group.
285. Fayet F, Flood V, Petocz P, et al. (2011) Relative and biomarker-based validity of a food frequency questionnaire that measures the intakes of vitamin B 12, folate, iron, and zinc in young women. *Nutr. Res.* **31**, 14–20. Elsevier Inc.

286. Brantsaeter AL, Haugen M, Alexander J, et al. (2008) Validity of a new food frequency questionnaire for pregnant women in the Norwegian Mother and Child Cohort Study (MoBa). *Matern. Child Nutr.* **4**, 28–43.
287. Bland JM & Altman DG (1986) Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet (London, England)* **1**, 307–10.
288. Bland JM & Altman DG (1999) Measuring agreement in method comparison studies. *Stat. Methods Med. Res.* **8**, 135–160. SAGE Publications.
289. Flood VM, Smith WT, Webb KL, et al. (2007) Issues in assessing the validity of nutrient data obtained from a food-frequency questionnaire: folate and vitamin B12 examples. *Public Health Nutr.* **7**, 751–756.
290. Combet E & Lean MEJ (2014) Validation of a short food frequency questionnaire specific for iodine in U.K. females of childbearing age. *J. Hum. Nutr. Diet.* **27**, 599–605.
291. Pauwels S, Doperé I, Huybrechts I, et al. (2014) Validation of a food-frequency questionnaire assessment of methyl-group donors using estimated diet records and plasma biomarkers: the method of triads. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **65**, 768–73.
292. Shai I, Rosner B a, Shahar DR, et al. (2005) Dietary evaluation and attenuation of relative risk: multiple comparisons between blood and urinary biomarkers, food frequency, and 24-hour recall questionnaires: the DEARR study. *J. Nutr.* **135**, 573–9.
293. Kabagambe EK, Baylin A, Allan DA, et al. (2001) Application of the Method of Triads to Evaluate the Performance of Food Frequency Questionnaires and Biomarkers as Indicators of Long-term Dietary Intake. *Am. J. Epidemiol.* **154**, 1126–1135. Oxford University Press.
294. Shuaibi AM, Sevenhuysen GP & House JD (2008) Validation of a Food Choice Map with a 3-Day Food Record and Serum Values to Assess Folate and Vitamin B-12 Intake in College-Aged Women. *J. Am. Diet. Assoc.* **108**, 2041–2050.
295. Teufel NI (1997) Development of culturally competent food-frequency questionnaires. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**, 1173S–1178S.
296. Altman DG (1991) *Practical Statistics For Medical Research*. London: Chapman & Hall/CRC.
297. Kelling SE, Rondon-Begazo A, DiPietro Mager NA, et al. (2016) Provision of Clinical Preventive Services by Community Pharmacists. *Prev. Chronic Dis.* **13**, E149. Centers for Disease Control and Prevention.
298. Rodrigues C & DiPietro N (2012) Knowledge of folic acid and counseling practices among Ohio community pharmacists. *Pharm. Pract. (Granada)*. **10**, 168–172. Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica, Universidad de Granada, Facultad de

Farmacia.

299. Lynch SM (2002) Assessment of student pharmacists' knowledge concerning folic acid and prevention of birth defects demonstrates a need for further education. *J. Nutr.* **132**, 439–442.
300. Power ML, Holzman GB & Schulkin J (2000) Knowledge and clinical practice regarding folic acid among obstetrician-gynecologists. *Obs. Gynecol* **95**, 895–898.
301. Li T, Zhu J, Zeng Z, et al. (2011) Study of KAP with regard to taking folic acid supplements and factors affecting the recommendation and prescription of those supplements among obstetricians and specialists in women's health in six provinces of Northern China, 2009. *Biosci. Trends* **5**, 104–110.
302. Abu-Hammad T, Dreiherr J, Vardy DA, et al. (2008) Physicians' knowledge and attitudes regarding periconceptional folic acid supplementation: a survey in Southern Israel. *Med. Sci. Monit.* **14**, CR262-267.
303. Demilew YM & Asres Nigussie A (2017) Knowledge of Health Professionals on Folic Acid Use and Their Prescribing Practice in Bahir Dar City Administration, Northwest Ethiopia: Cross-Sectional Study. *PLoS One* **12**, e0170116 [Ciccozzi M, editor]. Public Library of Science.
304. Pardo R, Lay-Son G, Aranda W, et al. (2006) Chilean primary health workers' knowledge about folic acid supplementation for the prevention of neural tube defects. *Am. J. Med. Genet. Part A* **140A**, 1238–1240.
305. Boykin CM & DiPietro Mager NA (2015) Ohio pharmacy students' knowledge of folic acid and neural tube defects. *Curr. Pharm. Teach. Learn.* **7**, 273–276. Elsevier.
306. Williams JL, Abelman SM, Fassett EM, et al. (2006) Health care provider knowledge and practices regarding folic acid, United States, 2002-2003. *Matern. Child Health J.* **10**, 67–72.
307. De Jong-Van Den Berg LTW, Van Der Zee AH, Schaafsma E, et al. (1999) Counselling women about periconceptional use of folic acid: The role of the community pharmacist can be improved. *Int. J. Pharm. Pract.* **7**, 138–142.
308. Zekovic M, Djekic-Ivankovic M, Nikolic M, et al. (2017) Validity of the Food Frequency Questionnaire Assessing the Folate Intake in Women of Reproductive Age Living in a Country without Food Fortification: Application of the Method of Triads. *Nutr. 2017, Vol. 9, Page 128* **9**, 128. Multidisciplinary Digital Publishing Institute.
309. Bitzer J, von Stenglin A & Bannemerschult R (2013) Women's awareness and periconceptional use of folic acid: data from a large European survey. *Int. J. Womens. Health* **5**, 201–13. Dove Press.

310. Berg LTWJ, Zee AH, Schaafsma E, et al. (1999) Counselling women about periconceptional use of folic acid: the role of the community pharmacist can be improved. *Int. J. Pharm. Pract.* **7**, 138–142. Blackwell Publishing Ltd.
311. Eades CE, Ferguson JS & O'Carroll RE (2011) Public health in community pharmacy: a systematic review of pharmacist and consumer views. *BMC Public Health* **11**, 582. BioMed Central.
312. Laliberté M-C, Perreault S, Damestoy N, et al. (2012) Ideal and actual involvement of community pharmacists in health promotion and prevention: a cross-sectional study in Quebec, Canada. *BMC Public Health* **12**, 192. BioMed Central.
313. Bixenstine PJ, Cheng TL, Cheng D, et al. (2015) Association Between Preconception Counseling and Folic Acid Supplementation Before Pregnancy and Reasons for Non-Use. *Matern. Child Health J.* **19**, 1974–84. NIH Public Access.
314. Erku DA & Mersha AG (2017) Involvement of community pharmacists in public health priorities: A multi-center descriptive survey in Ethiopia. *PLoS One* **12**, e0180943. Public Library of Science.
315. Gavaza P, Brown CM, Lawson KA, et al. (2011) Examination of pharmacists' intention to report serious adverse drug events (ADEs) to the FDA using the theory of planned behavior. *Res. Soc. Adm. Pharm.* **7**, 369–382. Elsevier Inc.
316. Fleming ML, Barner JC, Brown CM, et al. (2014) Using the theory of planned behavior to examine pharmacists' intention to utilize a prescription drug monitoring program database. *Res. Soc. Adm. Pharm.* **10**, 285–296. Elsevier Inc.
317. Watson MC, Johnston M, Entwistle V, et al. (2014) Using the theory of planned behaviour to develop targets for interventions to enhance patient communication during pharmacy consultations for non-prescription medicines. *Int. J. Pharm. Pract.* **22**, 386–396.
318. Tan CLH, Hassali MA, Saleem F, et al. (2016) Building intentions with the theory of planned behaviour: a qualitative assessment of salient beliefs about pharmacy value added services in Malaysia. *Heal. Expect.* **19**, 1215–1225.
319. Ajzen I (1991) The theory of planned behavior. *Organizational Behav. Hum. Decis. Process.* **50**, 179–211.
320. Frye AW & Hemmer PA (2012) Program evaluation models and related theories: AMEE Guide No. 67. *Med. Teach.* **34**, e288–e299. Taylor & Francis.
321. Engel RJ & Schutt RK (2014) Group Experimental Design. In *Fundam. Soc. Work Res.*, second edi, pp. 118–144. Thousand Oaks, California, USA: SAGE Publications, Inc.
322. Gambrill E (2006) Evidence-Based Practice and Policy: Choices Ahead. *Res. Soc.*

Work Pract. **16**, 338–357.

323. Fajgelj S (2005) Vrste istraživanja. In *Metod. istraživanja ponašanja*, II izdanje, pp. 190–300. Beograd: Centar za primenjenu psihologiju.
324. Allport GW (1935) Attitudes. In *Handb. Soc. Psychol.*, pp. 789–844. Worcester, Mass: Clark University Press.
325. Helma Van Den Berg, Manstead ASR, Van Der Pligt J, et al. (2006) The impact of affective and cognitive focus on attitude formation. *J. Exp. Soc. Psychol.* **42**, 373–379.
326. Jain V (2014) 3D Model of Attitude. *Int. J. Adv. Res. Manag. Soc. Sci.* **3**.
327. Tomko JR & Giannetti VJ (2013) Knowledge, attitudes, and professional practices versus personal beliefs of pharmacists regarding chemically dependent patients. *Ment. Heal. Clin.* **3**, 302–308. College of Psychiatric and Neurologic Pharmacists .
328. Milosavljevic J, Bogavac-Stanojevic N, Krajnovic D, et al. (2017) Serbian gynecologists' and pharmacists' beliefs about emergency contraception. *Women Health* **57**, 508–519.
329. Milosavljevic J, Krajnovic D & Bogavac-Stanojevic N (2016) Predictors of pharmacists' provision of emergency contraceptive pills. *Health Care Women Int.* **37**, 1170–1181.
330. Jovic D & Krajnovic D (2014) Development and initial validation of a scale to measure attitudes and beliefs of pharmacists toward their work with patients. *Vojn. Pregl* **71**, 373–382.
331. Fabrigar LR, Petty RE, Smith SM, et al. (2006) Understanding Knowledge Effects on Attitude–Behavior Consistency: The Role of Relevance, Complexity, and Amount of Knowledge. *J. Pers. Soc. Psychol.* **90**, 556–77.

8 PRILOZI

8.1 Prilog I: Spisak tabela

Tabela 1. Sadržaj folata u pojedinim namirnicama (adaptirano prema Srpskoj bazi podataka o sastavu namirnica - Serbian Food Composition Database (FCDB))

Tabela 2. Dijetarne referentne vrednosti za folate - Evropska agencija za bezbednost hrane

Tabela 3. Preporuke o unosu folata za specifične populacione grupe – Organizacija za hranu i poljoprivredu Ujedinjenih nacija i Svetska zdravstvena organizacija

Tabela 4. Pregled metoda za određivanje folata – prednosti i nedostaci

Tabela 5. Pregled defekata nervne cevi

Tabela 6. Procenjeni dnevni unos energije, makronutrijenata i folata, na osnovu F-FFQ-a i srednje vrednosti tri 24h ankete ishrane uz korelacione koeficijente između vrednosti procenjenih primenom navedenih metoda

Tabela 7. Medijane, 5. i 95. percentili dnevnog unosa dvanaest grupa namirnica i njihov doprinos dnevnom unosu folata zasnovan na ponovljenim 24h anketama ishrane

Tabela 8. Glavni dijetarni izvori folata za analiziranu kohortu žena reproduktivne dobi (n=503) na osnovu 24h anketa ishrane i F-FFQ-a

Tabela 9. Biomarkeri statusa folata – prikaz prema kvartilima raspodele dijetarnog unosa

Tabela 10. Unakrsna klasifikacija (%) ispitanica u kvartile na osnovu procenjenog unosa folata primenom F-FFQ-a i referentnih validacionih metoda (srednja vrednost tri 24h ankete ishrane i biomarkeri statusa folata)

Tabela 11. Struktura uzorka – sociodemografske karakteristike i profesionalni profil ispitanika u KAP studiji

Tabela 12: Struktura uzorka na osnovu tipa javnih apoteka u kojima su ispitanici zaposleni

Tabela 13. Distribucija tačnih odgovora na testu za procenu znanja u odnosu na profesionalne grupe farmaceutskog tima

Tabela 14. Metrijska svojstva testa za procenu znanja

Tabela 15. Distribucija stavova ispitanika u vezi sa savetovanjem žena o adekvatnom unosu folata

Tabela 16. Svojevredne vrednosti faktora i doprinos ukupnoj varijansi prema analizi glavnih komponenti

Tabela 17. Matrica faktorskih opterećenja sa Oblimin rotacijom za trofaktorsko rešenje

Tabela 18. Pouzdanost skale stavova

Tabela 19. Distribucija učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima u javnim apotekama: prikaz prema profesionalnom statusu, polu, geografskom stratumu i vlasništvu apoteke

Tabela 20. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama

Tabela 21. Izvori informacija o preporučenim vrednostima unosa, ulozi i značaju folne kiseline

Tabela 22. Glavne barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata ženama reproduktivne dobi u apotekama

Tabela 23. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima i primeni dijetetskih suplemenata folne kiseline: prikaz po tematskim oblastima

Tabela 24. Distribucija stavova studenata farmacije u vezi sa perikonceptijskom primenom dijetetskih suplemenata folne kiseline

Tabela 25. Struktura uzorka prema sociodemografskim karakteristikama i parametrima profesionalnog profila: komparabilnost eksperimentalne i kontrolne grupe

Tabela 26. Ispitivanje promene postignuća na testu znanja neposredno nakon edukativnog programa kod ispitanika eksperimentalne grupe

Tabela 27. Evaluacija skora napretka u znanju o folatima nakon edukacionog programa: prikaz za farmaceute i farmaceutske tehničare iz eksperimentalne grupe

Tabela 28. Evaluacija razlika u postignućima na testu znanja u okviru eksperimentalne grupe na nivou neposrednog i naknadnog posttesta

Tabela 29. Evaluacija razlika u postignućima na testu znanja u okviru kontrolne grupe na nivou pretesta i posttesta

Tabela 30. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima između eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije (pretest rezultati)

Tabela 31. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima u okviru eksperimentalne grupe u početnoj tački studije, neposredno nakon edukacije i posle mesec dana, kao i u kontrolnoj grupi na nivou pretest i posttest rezultata

Tabela 32. Evaluacija razlika u prosečnim skorovima po stavovima između eksperimentalne i kontrolne grupe u završnoj tački studije (posttest rezultati)

Tabela 33. Distribucija frekvenci (%) odgovora ispitanika eksperimentalne i kontrolne grupe u završnoj tački studije za stavove za koje je utvrđena statistički značajna razlika između grupa

Tabela 34. Distribucija učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima među farmaceutima i farmaceutkim tehničarima eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije

Tabela 35. Učestalost pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama: komparativna analiza eksperimentalne i kontrolne grupe u početnoj tački studije (pretest)

Tabela 36 . Evaluacija zadovoljstva polaznika edukativnim programom o folatima

8.2 Prilog II: Spisak slika

Slika 1. Hemijska struktura folne kiseline

Slika 2. Primeri folata iz dijetarnih izvora

Slika 3. Resorpcija i homeostaza folata

Slika 4. Ilustracija okultne i manifestne Spine bifide

Slika 5. Ilustracija različitih lokalizacija encefalokele

Slika 6. Ilustracija anecefalije

Slika 7. Ilustracija statusa legislative u vezi sa fortifikacijom proizvoda od pšeničnog i/ili kukuruznog brašna i/ili pirinča folnom kiselinom.

Slika 8. Šematski prikaz toka intervencijske studije (pretest-posttest eksperimentalni dizajn sa kontrolnom grupom)

Slika 9. Šematski prikaz procesa regrutacije, stope odgovora i odziva ispitanica u studiji procene validnosti F-FFQ-a

Slika 10. Struktura uzorka: Klasifikacija ispitanica prema indeksu telesne težine

Slika 11. Relativni doprinos (%) dvanaest grupa namirnica dnevnom unosu folata u analiziranoj kohorti (n=503), na osnovu sprovedenih 24h anketa ishrane

Slika 12. Korelacija između unosa folata procenjenih primenom F-FFQ-a i 24h anketa ishrane za a) kompletan uzorak ($r=0.56$, $p<0.001$) i b) validacionu podgrupu ($r=0.57$, $p<0.001$)

Slika 13. Korelacija između unosa folata procenjenih primenom F-FFQ-a i biomarkera statusa folata a) koncentracija folata u serumu ($r_{ser}=0.28$, $p<0.01$) i b) koncentracija folata u eritrocitima ($r_{rbc}=0.37$, $p<0.01$)

Slika 14. Bland-Altman dijagram za procenu slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa folata: prikaz na nivou kompletnog uzorka (n=503)

Slika 15. Bland-Altman dijagram za procenu slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa folata: prikaz na nivou validacione podgrupe (n=50)

Slika 16. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa energije

Slika 17. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa masti

Slika 18. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa proteina

Slika 19. Bland-Altman dijagram za evaluaciju slaganja između F-FFQ-a i srednje vrednosti ponovljenih 24h anketa ishrane u proceni dijetarnog unosa ugljenih hidrata

Slika 20. Metodom trijade izračunati koeficijenti korelacije (r_{QB} , r_{RB} , r_{QR}) između unosa folata procenjenog pomoću F-FFQ (Q), srednje vrednosti unosa na osnovu tri 24h ankete ishrane (R) i biomarkera statusa (koncentracija folata u eritrocitima – model trijade I; koncentracija folata u serumu – model trijade II) (B), kao i koeficijenti validacije navedenih metoda (ρ_{QI} , ρ_{BI} , ρ_{RI}), koji ukazuje na povezanost stvarnog unosa folata (I) i procenjenih vrednost

Slika 21. Struktura uzorka KAP studije na osnovu najvišeg stepena formalnog obrazovanja

Slika 22. Distribucija ispitanika KAP studije prema broju tačnih odgovora na testu znanja

Slika 23. Dijagram prevoja svojstvenih vrednosti i primena Catell-ovog kriterijuma za određivanje broja faktora

Slika 24. Distribucija studenata farmacije po broju tačnih odgovora na testu znanja

Slika 25. Zainteresovanost studenata za dodatnu edukaciju o folatima: prikaz po tematskim oblastima (%)

Slika 26. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Slika 27. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz regiona Vojvodina na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Slika 28. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Beograda na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Slika 29. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Centralne i zapadne Srbije na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Slika 30. Distribucija ispitanika eksperimentalne grupe iz Južne i istočne Srbije na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest), neposredno nakon edukacionog programa (posttest 1) i nakon mesec dana (posttest 2)

Slika 31. Distribucija ispitanika kontrolne grupe na osnovu broja tačnih odgovora na testu znanja u prvoj tački studije (pretest) i nakon mesec dana (posttest)

Slika 32. Šematski prikaz komparativne analize znanja o folatima između eksperimentalne i kontrolne grupe i evaluacija promena u znanju u funkciji edukativne intervencije

Slika 33. Distribucija frekvence tačnih odgovora na nivou pojedinačnih pitanja u okviru eksperimentalne grupe

Slika 34. Distribucija frekvence tačnih odgovora na nivou pojedinačnih pitanja u okviru kontrolne grupe

Slika 35. Promena distribucije učestalosti pružanja informacija i saveta o folatima prilikom izdavanja različitih kategorija proizvoda u javnim apotekama među ispitanicima eksperimentalne grupe

8.3 Prilog III: Lista namirnica uključenih u F-FFQ

Grupa namirnica	Namirnice/recepture uključene u F-FFQ
Mleko, mlečni proizvodi i zamene za mleko	Mleko; Sojino mleko; Jogurt (mlečni/sojin); Sir, meki/mazivi; Sir, polutvrđi/tvrđi; Tofu; Kajmak; Pavlaka; Maslac
Meso i mesne preradevine	Svinjetina; Teletina/junetina; Jagnjetina; Živinsko meso (piletina/ćuretina); Džigerica (pileća/svinjska); Jetrena pašteta; Šunka; Viršle; Kobasice; Slanina
Riba i morski plodovi	Losos; Sardina; Tunjevina; Skuša; Pastrmka; Som; Oslić; Mešani morski plodovi; Riblja pašteta
Masti i ulja	Suncokretovo ulje; Ulje repice; Maslinovo ulje; Druga ulja; Margarin; Svinjska mast
Ne-mlečni napici	Kafa; Čaj; Voćni sok iz koncentrata sa dodatim šećerom (pomorandža, jabuka, breskva, kajsija itd.); Sok 100% voće, bez dodatog šećera (pomorandža, jabuka, breskva, kajsija itd.); Instant vitaminski napitak (pr. Cedevida, Multivita itd.)
Jaja i proizvodi od jaja	Jaja, barena/pečena/pržena/poširana; Kajgana; Omlet
Orašasti plodovi i semenke	Orasi; Lešnici; Bademi; Kikiriki; Semenke (suncokret, lan, golica)
Povrće i proizvodi od povrća	Pasulj; Sočivo; Grašak; Boranija; Brokoli; Karfiol; Kelj; Cvekla; Salata (ajsberg, puterica, kristalka, hrastov list, rukola); Kupus; Paprika; Krompir; Spanać; Blitva; Tikvice; Šargarepa; Kukuruz šećerac; Kiseli kupus; Turšija; Ajvar/pindjur
Voće i proizvodi od voća	Pomrandže; Mandarine; Grejpfrut; Limun; Banane; Jabuke; Kruške; Jagode; Grožđe; Kupine; Maline; Borovnice; Trešnje; Višnje; Dinje; Lubenice; Šljive; Paradajz; Suvo voće (šljive/smokve/ kajsije/ grožđe)
Žitarice i proizvodi od žitarica	Helb (beli/integralni/ražani/mešano brašno/kukuruzni); Pirinač; Lisnata peciva; Peciva od kiselog i kvasnog testa; Kačamak; Testenina; Cerealije (kornfleks, musli, ovsena kaša itd.)
Razno	Pite (sir/zelje/spanać); Slatkiši (bombone/keks/kolači/čokolada); Pica; Sarmice od zelja; Prebranac; Punjene suve paprike

F-FFQ, Folate Food Frequency Questionnaire – Upitnik o učestalosti namirnica za procenu dijetarnog unosa folata

8.4 Prilog IV: Upitnik - Stavovi, praksa i znanja farmaceuta i farmaceutskih tehničara u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Opšte informacije o ispitaniku

1. Pol
 - a) ženski
 - b) muški
2. Starost:
_____god.
3. Status:
 - a) farmaceut sa licencom (odobrenjem za samostalni rad)
 - b) farmaceut stažer
 - c) farmaceutski tehničar
4. Bračni status:
 - a) neudata/neoženjen
 - b) udata/oženjen
 - c) udovica/udovac
 - d) razvedena/razveden
 - e) živim sa partnerom
 - f) drugo
5. Da li imate decu?
 - a) da
 - b) ne
6. Ukoliko je odgovor da, koliko dece imate?

7. Najviši stepen formalnog obrazovanja:
 - a) srednja stručna sprema
 - b) fakultet
 - c) specijalističke akademske studije
 - d) specijalističke studije za potrebe zdravstva
 - e) magisterijum
 - f) doktorske akademske studije
8. Godine radnog staža u apotekarskoj praksi
_____god.
9. Tip apoteke u kojoj ste zaposleni:
A
 - a) samostalna javna apoteka (1 apoteka)
 - b) deo manjeg lanca javnih apoteka (2-10 apoteka)
 - c) deo srednjeg lanca javnih apoteka (11-25 apoteka)

- d) deo većeg lanca javnih apoteka (preko 26 apoteka)
- e) bolnička apoteka

B

- a) u državnom vlasništvu
- b) u privatnom vlasništvu

10. Geografski region u kom se nalazi ustanova u kojoj ste zaposleni:

- a) Vojvodina
- b) Beograd
- c) Sumadija i Zapadna Srbija
- d) Južna i Istočna Srbija

Prvi deo: Stavovi

Molim Vas da pročitate sledeće izjave i da pomoću navedene skale (1-5) označite u kom stepenu se slažete sa svakom od njih. Ako se **potpuno slažete** sa navedenim označite broj **5**, ako se **uglavnom slažete** broj **4**, ukoliko se **delimično slažete** označite **3**, ako se **uglavnom ne slažete** **2** i ako se **uopšte ne slažete** sa navedenim označite broj **1**. Vaš odgovor možete označiti upisom **x** u prazno polje koje odgovara odabranom broju.

Uopšte se ne slažem	Uglavnom se ne slažem	Delimično se slažem	Uglavnom se slažem	Potpuno se slažem
1	2	3	4	5

	1	2	3	4	5
Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline tokom perikonceptijskog perioda je izuzetno značajna za obezbeđivanje zdravog potomstva					
Samo žene reproduktivne dobi koje planiraju trudnoću treba da uzimaju dijetetske suplemente folne kiseline					
Farmaceuti i farmaceutske tehničari raspolažu s dovoljno znanja i informacija da pružaju adekvatne savete o unosu folata ženama reproduktivne dobi					
Kongenitalne anomalije predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu morbiditeta i mortaliteta					
Primena dijetetskih suplemenata folne kiseline u perikonceptijskom periodu i tokom trudnoće predstavlja medikalizaciju trudnoće					
Zdravstveni radnici iz zdravstvenih ustanova primarne zdravstvene zaštite su izuzetno važni za promociju reproduktivnog zdravlja i prevenciju kongenitalnih anomalija					
Žene reproduktivne dobi u Republici Srbiji su dovoljno informisane o ulozi i adekvatnom unosu folata					
Važno je da se unapredi svest žena o značaju folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija					
Kongenitalne anomalije ne predstavljaju veliki javnozdravstveni problem u kontekstu društvenih troškova i ljudske patnje					
Pacijentkinje u apotekama nisu zainteresovane da se edukuju o dijetetskim suplementima koji se primenjuju s ciljem obezbeđivanja zdrave trudnoće i potomstva					
Nije moja obaveza da savetujem žene o merama za prevenciju kongenitalnih anomalija					

Informacije o adekvatnom unosu folata farmaceuti i farmaceutski tehničari treba da daju samo na zahtev pacijentkinje/a, a ne samoinicijativno					
U kontaktu sa ženama reproduktivne dobi neprijatno mi je da pokrenem temu planiranja porodice i prevencije defekata nervne cevi					
Smatram da su farmaceuti i farmaceutski tehničari kao najdostupniji zdravstveni radnici važni za promociju zdravlja i prevenciju bolesti					

Drugi deo: **Praksa**

Molim Vas da pročitate naredna pitanja i označite odgovor koji smatrate tačnim.

1. Informacije o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija pružam:
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)

svakodnevno	nekoliko puta nedeljno	Jednom nedeljno	nekoliko puta mesečno	jednom mesečno	retko	Nikada

2. Koliko često prilikom izdavanja sledećih proizvoda ženama reproduktivne dobi pružate informacije o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija (odabrati po jedan od ponuđenih odgovora)

	nikada	retko	povremeno	često	uvek
Kontracepcijski preparati (oralna kontracepcija i medicinska sredstva za kontrolu začeća)					
Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi					
Testovi za utvrđivanje plodnih dana					
Testovi za utvrđivanje trudnoće					
Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata					

3. Da li u apoteci imate adekvatan prostor koji omogućava privatnost prilikom pružanja informacija o planiranju zdravog potomstva?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)

- a) da
b) ne

4. Da li imate dovoljno vremena tokom svakodnevnog obavljanja radne prakse da savetujete žene o adekvatnom unosu vitamina i minerala u periodu planiranja trudnoće i tokom trudnoće?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)

Nikada	retko	povremeno	Često	uvek

5. Kontracepcijske proizvode (oralna kontracepcija i medicinska sredva), testove za utvrđivanje plodnih dana i trudnoće, vitaminsko-mineralne dijetetske suplemente ženama reproduktivne dobi u apoteci izdajem:
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)
- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| a) više puta dnevno | d) jednom nedeljno |
| b) svakodnevno | e) nekoliko puta mesečno |
| c) nekoliko puta nedeljno | f) jednom mesečno ili ređe |
6. Da li ste ikada imali edukaciju o adekvatnom unosu, ulozi i značaju folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija
- a) da
b) ne
c) ne znam
7. Kada ste poslednji put imali pristup informacijama o preporučenom unosu, ulozi i značaju folne kiseline?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)
- | | |
|-------------------------|-----------------------------|
| a) pre više od 5 godina | d) pre 6 meseci-godinu dana |
| b) pre 4-5 godina | e) pre 3-6 meseci |
| c) pre 2-3 godine | f) u poslednja 3 meseca |
8. Da li ste do tih informacija došli samoinicijativno?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)
- a) da
b) ne
c) ne secam se
9. Da li biste voleli da dobijete dodatne informacije o ovoj temi?
- a) da
b) ne
c) ne znam
10. Da li su u apoteci u kojoj ste zaposleni dostupni štampani edukativni materijali (brošure, flajeri, poster...) o folnoj kiselini i/ili unosu vitamina i minerala u periodu planiranja trudnoće i tokom trudnoće
- a) da
b) ne
c) ne znam
11. Glavi izvori Informacija o preporučenim vrednostima unosa, ulozi i značaju folne kiseline za Vas su:
(možete odabrati jedan ili više ponuđenih odgovora)
- | | |
|---|-------------------------------|
| a) predstavnici farmaceutskih kompanija | f) stručni skupovi i kongresi |
| b) kursevi kontinuirane edukacije | g) drugo, molimo |
| c) sajtovi relevantnih institucija (domaćih i međunarodnih) | dopunite _____ |
| d) stručni časopisi i knjige | |
| e) sredstva javnog informisanja (TV, radio, štampa, internet) | |

12. Glavne barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata ženama reproduktivne dobi u apotekama su:

(*možete odabrati jedan ili više ponuđenih odgovora*)

- | | |
|--|--|
| a) nedostatak vremena i/ili adkevatnog prostora u apoteci | e) nedostatak znanja farmaceuta i farmaceutskih tehničara i nedovoljna dostupnost informacija o preporukama vezanim za unos folata |
| b) nezainteresovanost pacijentkinja | f) nedovoljna motivisanost farmaceuta i farmaceutskih tehničara |
| c) nepostojanje materijalne stimulacije za pružanje ove usluge | g) drugo, molimo dopunite _____ |
| d) tabu teme planiranja potomstva i prevencije kongenitalnih anomalija | |

13. Prilikom pružanja informacija i saveta u vezi sa folatima pacijente informišem o:

(*odabrati po jedan od ponuđenih odgovora*)

	nikada	retko	povremeno	često	uvek
Prirodnim izvorima folata					
Preporučenim vrednostima unosa					
Interakcijama u koje stupaju folati sa lekovima					
Adekvatnom trenutku za započinjanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline i dužini primene tokom planiranja trudnoće					
Posledicama neadekvatnog statusa folata					
Efikasnosti folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija					
Biološkoj raspoloživosti folne kisele kiseline u zavisnosti od toga da li se uzima na prazan stomak ili uz obrok					

14. Da li ste upoznati sa deklarisanim sadržajem folne kiseline u dijetetskim suplementima koji su dostupni u apoteci u kojoj ste zaposleni?

(*odabrati jedan od ponuđenih odgovora*)

- | | |
|----------------------------|-----------------------------|
| a) da, za sve proizvode | c) da, za pojedne proizvode |
| b) da, za većinu proizvoda | d) ne |

15. Informacije o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija pružam:

(*odabrati jedan od ponuđenih odgovora*)

- | | |
|---|---|
| a) uvek samoinicijativno | d) gotovo uvek kao odgovor na pitanje pacijenta |
| b) najčešće samoinicijativno | e) isključivo kao odgovor na pitanje pacijenta |
| c) ponekad samoinicijativno, ponekad kao odgovor na pitanje pacijenta | |

Treći deo: **Saznanja**

1. Folna kiselina je supstanca prirodnog porekla:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)
 - a) tačno
 - b) netačno

2. Najboji prirodni izvori folata su:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)
 - a) šargarepa, bundeva, kajsiје, paprika, džigerica, riba
 - b) mleko i mlečni proizvodi, sardine, soja, badem, kelj, pasulj
 - c) zeleno lisnato povrće, kvasac, žumance, džigerica, citrusno voće
 - d) citrusno voće, paprika, kivi, kupus, paradajz, bobičasto voće

3. Ženama u reproduktivnom period su, pored prirodnih, potrebni dodatni izvori folata da bi obezbedile unos ovih nutrijenata koji je saglasan preporukama za prevenciju kongenitalnih anomalija
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)
 - a) tačno
 - b) netačno

4. U Republici Srbiji je, kao i u preko 80 zemalja sveta, na snazi politika o obaveznoj fortifikaciji (obogaćivanju) namirnica od žita folatima:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)
 - a) tačno
 - b) netačno
 - c) ne znam

5. Uloga folne kiseline posebno je značajna za:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)
 - a) prevenciju bubrežnih oboljenja
 - b) prevenciju defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija
 - c) prevenciju osteomalacije i osteoporoze
 - d) prevenciju poremećaja u procesu koagulacije

6. Preporučeni dnevni unos folata za odrasle osobe (19-65 godina) prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji iznosi:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)

a) 230 mg	d) 400µg
b) 4 mg	e) 800 µg
c) 400 mg	f) 60 µg

7. Tolerišući gornji nivo unosa prema Svetskoj zdravstvenoj organizaciji iznosi:
(*odabрати jedan od ponuđenih odgovora*)

a) 1 000 µg	d) 6g
b) 1g	e) 40 mg
c) 60mg	f) 4 mg

8. Žene koje planiraju trudnoću treba da uzimaju suplemente folne kiseline, kao dopunu raznovrsnoj ishrani.
Ova izjava se odnosi na:
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) sve žene
- b) žene starije od 35 godina
- c) žene koje su primenjivale oralne kontraceptive
- d) žene koje u medicinskoj istoriji imaju registrovanu trudnoću sa kongenitalnim anomalijama ploda
- e) žene koje primenjuju antikonvulzivnu terapiju

9. Sa primenom dijetetskih suplemenata folne kiseline žene treba da počnu:
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) čim saznaju da su u drugom stanju i da nastave do porođaja
- b) po ulasku u drugi trimestar trudnoće pa do porođaja
- c) od momenta planiranja trudnoće, idealno dva meseca pre začeća, i u prvih 12 nedelja trudnoće
- d) čim saznaju da su u drugom stanju i tokom prvog trimestra trudnoće

10. Nervna cev se razvija:
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) u poslednjim fazama gestacije
- b) u prvih 21-28 dana od začeća
- c) najintenzivnije pred kraj prvog trimestra trudnoće
- d) između drugog i šestog meseca trudnoće

11. Kolika je preporučena dnevna doza folne kiseline koju kao dopunu raznovrsnoj ishrani treba da uzimaju žene sposobne da ostanu u drugom stanju?
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) 230 mg
- b) 4 mg
- c) 400 mg
- d) 400 μg
- e) raznovrsna ishrana je dovoljna da se obezbedi adekvatan unos
- f) 60 μg

12. Žene koje su u prethodnim trudnoćama imale registrovane kongenitalne anomalije ploda, da bi sprečile rekurencu ovih poremećaja, treba da primenjuju suplemente folne kiseline u dozi od:
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) 1 mg
- b) 1 g
- c) 4 mg
- d) 4 g
- e) 40 mg
- f) 60 mg

13. Zaokružiti tačnu tvrdnju:
(odaberi jedan od ponuđenih odgovora)

- a) biološka raspoloživost folata iz hrane je 85%, folne kiseline uzete na prazan stomak 50%, a sa hranom 100%
- b) biološka raspoloživost folata iz hrane je 50%, folne kiseline uzete na prazan stomak 85%, a sa hranom 100%
- c) biološka raspoloživost folata iz hrane je 85%, folne kiseline uzete na prazan stomak 100%, a sa hranom 85%
- d) biološka raspoloživost folata iz hrane je 50%, folne kiseline uzete na prazan stomak 100%, a sa hranom 85%

8.5 Prilog V: Kontrolne liste za evidenciju aktivnosti u vezi sa savetovanjem žena reproduktivne dobi o adekvatnom unosu folata

Jedinstveni broj ispitanika: _____

Molimo Vas da znakom x označite nedelju u toku studije na koju se odnose podaci :

Prva nedelja	Druga nedelja	Treća nedelja	Četvrta nedelja

Molimo Vas da procenite koliko ste žena ukupno tokom prethodne nedelje savetovali o adekvatnom unosu folata (upisati cifru) _____

Molimo Vas da pažljivo pročitate naredna pitanja označite odgovor koji smatrate tačnim.

- Prilikom pružanja informacija i saveta u vezi sa folatima pacijentkinje ste informisali o:
(odabrati po jedan od ponuđenih odgovora)

	nikada	retko	povremeno	često	uvek
Prirodnim izvorima folata					
Preporučenim vrednostima unosa					
Interakcijama u koje stupaju folati sa lekovima					
Adekvatnom trenutku za započinjanje primene dijetetskih suplemenata folne kiseline i dužini primene tokom planiranja trudnoće					
Posledicama neadekvatnog statusa folata					
Efikasnosti folne kiseline u prevenciji kongenitalnih anomalija					
Biološkoj raspoloživosti folne kisele kiseline u zavisnosti od toga da li se uzima na prazan stomak ili uz obrok					

- Koliko često ste, tokom prethodne nedelje, prilikom izdavanja sledećih proizvoda ženama reproduktivne dobi, pružali informacije o adekvatnom unosu folata i ulozi dijetetskih suplemenata folne kiseline u prevenciji defekata nervne cevi i drugih kongenitalnih anomalija?
(odabrati po jedan od ponuđenih odgovora)

	nikada	retko	povremeno	često	uvek
Kontracepcijski preparati (oralna kontracepcija i medicinska sredstva za kontrolu začeća)					
Vitaminsko-mineralni dijetetski suplementi					
Testovi za utvrđivanje plodnih dana					
Testovi za utvrđivanje trudnoće					
Lekovi koji mogu uzrokovati deficijenciju folata					

3. Da li ste imali dovoljno vremena tokom svakodnevnog obavljanja radne prakse da savetujete žene o adekvatnom unosu vitamina i minerala u periodu planiranja trudnoće i tokom trudnoće?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)

Nikada	retko	povremeno	često	uvek

4. Da li ste, tokom prethodne nedelje, tragali za dodatnim informacijama o ovoj temi?
(odabrati jedan od ponuđenih odgovora)

- a) da
b) ne
c) ne znam

5. Ukoliko jeste, koje ste izvore informacija o preporučenim vrednostima unosa, ulozi i značaju folne kiseline koristili:
(upisati x u rubriku pored odabranih odgovora)

Predstavnici farmaceutske kompanije	
Kursevi kontinuirane edukacije	
Sajtovi relevantnih institucija (domaćih i međunarodnih)	
Stručni časopisi i knjige	
Sredstva javnog informisanja (TV, radio, štampa, internet)	
Stručni skupovi i kongresi	
Drugo (molimo dopunite) _____	

6. Glavne barijere redovnom pružanju informacija i saveta o unosu folata ženama reproduktivne dobi s kojima ste se suočili tokom prethodne nedelje bile su:
(upisati x u rubriku pored odabranih odgovora)

Nedostatak vremena i/ili adekvatnog prostora u apoteci	
Nezainteresovanost pacijentkinja	
Nepostojanje materijalne stimulacije za pružanje ove usluge	
Tabu teme planiranja potomstva i prevencije kongenitalnih anomalija	
Nedostatak znanja i/ili nedovoljna dostupnost informacija o preporukama vezanim za unos folata	
Nedovoljna motivisanost farmaceuta i farmaceutskih tehničara	
Drugo (molimo dopunite) _____	

8.6 Prilog VI: Evaluacioni upitnik za procenu zadovoljstva polaznika edukacionim programom

Datum održavanja edukacije: _____ Jedinstveni kod ispitanika: _____

Popunjavanje ovog upitnika podrazumeva potpunu zaštitu identiteta ispitanika. Rezultati će biti korišćeni isključivo u naučnoistraživačke svrhe. U slučaju dodatnih pitanja i nejasnoća, molimo Vas da se obratite istraživačima. Hvala Vam na izdvojenom vremenu, angažovanju i saradnji.

Molimo Vas da stepen zadovoljstva različitim aspektima edukacionog programa označite ocenom od 1 do 5, gde 1 označava nezadovoljan, 2 slabo zadovoljan, 3 zadovoljan, 4 vrlo zadovoljan i 5 u potpunosti zadovoljan. Vaš odgovor možete označiti upisom **x** u prazno polje koje odgovara odabranom broju.

Aspekti edukacionog programa	Ocena				
	1	2	3	4	5
Izbor teme programa					
Sadržaj programa					
Korisnost programa za radnu praksu					
Način i metode prezentovanja sadržaja					
Izlaganje predavača					
Organizacija programa					
Opšta ocena programa					

Da li je edukacioni program zadovoljio Vaša očekivanja?

Da Ne

Da li biste ovaj program preporučili kolegama?

Da Ne

Da li mislite da ste usvojili sadržaje koji su Vam predstavljeni?

Da Ne

Da li ste motivisani da primenite nova znanja u radnu praksu?

Da Ne

Ukoliko imate dodatne komentare i sugestije u vezi sa sadržajem i organizacijom edukacionog programa, kao i metodama prezentacije sadržaja i izlaganjem predavača, najljubaznije Vas molimo da ih ovde iznesete:

8.7 Prilog VII: Biografija autora

Mr ph spec Milica Zeković rođena je 29. Jula 1990.godine u Beogradu gde je i završila Osnovnu školu „Petar Petrović Njegoš”, Osnovnu muzičku školu „Mokranjac“, Srednju muzičku školu „Josip Slavenski“ i Treću Beogradsku gimnaziju kao dobitnik Vukove diplome. Integrisane akademske studije na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je školske 2008/09. godine, i diplomirala je 27. Juna 2013. godine na studijskom programu Farmacija sa prosečnom ocenom 9,76 i ocenom 10 za odbranu završnog rada. Tokom studija je bila stipendista Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije (2009-2012), stipendista Ministarstva omladine i sporta: Fonda za mlade talente ”Dositeja” (2012), kao i dobitnik Godišnje nagrade najboljim studentima integrisanih akademskih studija Farmaceutskog fakulteta (2010, 2011). Doktorske akademske studije, modul Socijalna farmacija i istraživanja farmaceutske prakse, upisala je 2013. godine na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Specijalističke akademske studije, studijski program Farmaceutski menadžment i marketing, upisala je iste godine na Farmaceutskom fakultetu Univerziteta u Beogradu, a specijalistički rad je odbranila 10. Jula 2014.godine sa ocenom 10. Tokom školske 2013/2014.godine bila je dobitnik Stipendije za izuzetno nadarene učenike i studente u Republici Srbiji u okviru grupe stipendija za biološko-medicinske nauke. U periodu mart 2014 - mart 2015. godine Milica Zeković je bila zaposlena na Odeljenju za imunologiju i imunoparazitologiju Instituta za primenu nuklearne energije. U pomenutom periodu bila je angažovana na projektu „Izučavanje mehanizma imunskog odgovora na infekciju ili produkte parazita i njihov uticaj na modulaciju i/ili prevenciju drugih bolesti“. Od marta 2015. godine zaposlena je u Centru izuzetne vrednosti za istraživanja u oblasti ishrane i metabolizma Instituta za medicinska istraživanja, gde je angažovana na projektu Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije „Biološki mehanizmi, nutritivni unos i status polinezasićenih masnih kiselina i folata: Unapređenje ishrane u Srbiji“. Takođe, Milica Zeković je u svojstvu istraživača angažovana u naučnim aktivnostima sledećih FP7 projekata: „Povoljni efekti dijetarnih bioaktivnih peptida i polifenola na kardiovaskularno zdravlje kod ljudi“ i „Rešenja optimalnog unosa vitamina D i zdravlja kroz životne cikluse na bazi unosa hrane”, kao i u dva EFSA projekta: „Podrška sprovođenju nacionalne studije o navikama u ishrani stanovništva u skladu sa EU Menu metodologijom“ za dečju populaciju starosti od 1 do 9 godina i za populaciju odraslih osoba starosti od 10 do 74 godina. U dosadašnjem naučno-istraživačkom radu objavila je 1 rad u međunarodnom časopisu izuzetnih vrednosti, 3 rada u vrhunskim međunarodnim časopisima, 1 rad u istaknutom međunarodnom časopisu, 3 rada u međunarodnim časopisima, 2 rada u časopisima nacionalnog značaja, 1 rad u naučnom časopisu, 2 saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u celini i 20 saopštenja sa međunarodnih skupova štampanih u izvodu.

Изјава о ауторству

Име и презиме аутора _____ Милица Зековић _____

Број индекса _____ ДАС 02/2013 _____

Изјављујем

да је докторска дисертација под насловом

„Валидација упитника за процену дијетарног уноса фолата и анализа знања, ставова и праксе фармацеутског тима у вези са саветовањем жена репродуктивне доби о адекватном уносу овог нутријента“

- 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 докторанда

У Београду, 01.априла 2018.године

Милица Зековић

Изјава о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада

Име и презиме аутора _____ Милица Зековић _____

Број индекса _____ ДАС 02/2013 _____

Студијски програм _социјална фармација и истраживање фармацеутске праксе

Наслов рада ____ „Валидација упитника за процену дијетарног уноса фолата и анализа знања, ставова и праксе фармацеутског тима у вези са саветовањем жена репродуктивне доби о адекватном уносу овог нутријента“ _____

Ментор _____ Др Душанка Крајновић, Др Мирјана Гуриновић _____

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 докторанда

У Београду, 01.априла 2018.године

Милица Зековић

Изјава о коришћењу

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

„Валидација упитника за процену дијетарног уноса фолата и анализа знања, ставова и праксе фармацеутског тима у вези са саветовањем жена репродуктивне доби о адекватном уносу овог нутријента“

која је моје ауторско дело.

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

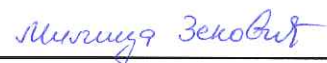
Моју докторску дисертацију похрањену у Дигиталном репозиторијуму Универзитета у Београду и доступну у отвореном приступу могу да користе сви који поштују одредбе садржане у одабраном типу лиценце Креативне заједнице (Creative Commons) за коју сам се одлучио/ла.

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 докторанда

У Београду, 01.априла 2018.године



1. **Ауторство.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.** Дозвољаваате 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.