

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
ИЗБОРНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО 17.09.10			
Сл. бр.	Бр.	Датум	Место
01	6189		

ПРЕДМЕТ:
**ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ОЦЕНИ ЗАВРШНЕ ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

**1. ОДЛУКА ИЗБОРНОГ ВЕЋА МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ**

На седници Изборног већа Медицинског факултета у Крагујевцу, одржаној дана 23.06.2010. године, одлуком број 01-4387/4-14 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршне докторске дисертације под називом "Утицај полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишућег фактора раста- β на клиничке карактеристике, резултате лечења и прогнозу болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија" кандидата др Оливере Тарабар, у следећем саставу:

1. Проф. др Небојша Арсенијевић, редовни професор за уже научне области Микробиологија и имунологија и Основи онкологије, Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу, председник,
2. Проф. др Звонко Магић, редовни професор за ужу научну област Генетика, Војномедицинска академија Београд, члан,
3. Доц. др Предраг Ђурђевић, доцент за ужу научну област Патолошка физиологија, Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу, члан.

2. ИЗВЕШТАЈ КОМИСИЈЕ О ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију др Оливере Тарабар и подноси Изборном већу следећи извештај:

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидата др Оливере Тарабар под називом "Утицај полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишућег фактора раста- β на клиничке карактеристике, резултате лечења и прогнозу болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија" представља прву студију ове врсте код нас која истражује дистрибуцију полиморфизама у генима за цитокине у оболелих од дифузног Б лимфома великих ћелија, и повезује генске полиморфизме са комплексним клиничким током и исходом лечења оболелих од лимфома. Дифузни Б лимфоми великих ћелија се одликују веома хетерогеном клиничком сликом, одговором на терапију и преживљавањем. И поред напретка у лечењу увођењем моноклонских CD20 антитела у прву линију лечења у спреси са хемиотерапијом, дуготрајно преживљавање без болести и могуће излечење ће остварити тек нешто више од 40% оболелих. Како поремећај имунског система има важну улогу у патогенези болести, резултати савремених студија су показали да полиморфизми у генима за важне имунорегулаторне цитокине, мењајући им функционалне карактеристике, доприносе предиспозицији за развој дифузних Б лимфома великих ћелија и/или утичу на клинички ток и одговор на терапију.

Специфичност и значај спроведог истраживања огледа се у свеобухватном приступу: а) учесталост полиморфизама у генима за цитокине у здравој популацији становништва и оболелих од дифузног Б лимфома великих ћелија, б) повезивање генских полиморфизама са дефинисаним прогностичким параметрима болести и исходом лечења, ц) анализирање утицаја генских полиморфизама према примењеној терапији, хемиотерапији (СНОР) и имунохемиотерапији (rituximab-СНОР).

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом литературе прикупљене детаљним и систематским претраживањем биомедицинске базе података, утврђено је да до сада није спроведено истраживање које је истовремено анализирано полиморфизме у генима за три важна имунорегулаторна цитокина као што су IL-10, TNF- α и TGF- β са током болести и исходом лечења болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија у односу на спроведену терапију облика имунохемиотерапије (rituximab-СНОР). На основу тога, Комисија констатује да докторска дисертација кандидата др Оливере Тарабар, у наслову "Утицај полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишућег фактора раста- β на клиничке карактеристике, резултате лечења и прогнозу болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија" представља резултат оригиналног научног рада на пољу унапређења процене удружености генских полиморфизама са тежином и исходом лечења оболелих са дифузним Б лимфомом великих ћелија.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

Др Оливера Тарабар, лекар специјалиста Интерне медицине, субспецијалиста из области Хематологије, запослена је у Клиници за хематологију Војно медицинске академије у Београду.

Од 2006. године члан је истраживачког тима у оквиру научно-истраживачког задатка "Анализа полиморфизма гена за цитокине код болесника са резидуалним лимфомским ћелијама" (пројект "Примена генског инжењерства и биотехнологије хибридома у хуманој медицини", координатор пројекта Академик проф. др Миодраг Чолић).

Активно је учествовала на међународним и домаћим симпозијумима и конгресима посвећеним тематици дијагностиковања и лечења малигних хематолошких оболења. На VII научном скупу о имунотерапији тумора, одржаном у Београду 2006. године у Српској академији наука и уметности, имала је усмено предавање о примени имунотерапије у лечењу нехочкинских лимфома. Највећи део објављених радова и усмених саопштења на стручним састанцима се бавио тематиком која је обрађена и у докторској дисертацији. Члан је Европског удружења за трансплантацију костне сржи и Европског удружења хематолога.

Списак објављених радова (прописани минимални услов за одбрану докторске дисертације)

Др Оливера Тарабар је до сада публиковала 9 радова у целини у међународним и националним часописима, од којих су следећи релевантни за овај извештај:

1. Cikota B, Tukic LJ, Tarabar O, Magic Z. Detection of t(14;18), P53 and RAS gene mutations and quantification of residual disease in patients with B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2007; 26(4):515-22. **M23**
2. Cikota B, Tukic LJ, Tarabar O, Stamatovic D, Elez M, Magic Z. PCR-based clonality assessment in patients with lymphocytic leukaemias: a single-institution experience. *J Genet* 2009; 88:309-14. **M23**
3. Tarabar O, Tukić Lj, Stamatović D, Balint B, Elez M, Ostojić G, Tatomirović Ž, Marjanović S. Autologa transplantacija matičnih ćelija hematopoeze u lečenju Hodgkinove bolesti. *Vojnosanit Pregl* 2009; 66(7): 571-76. **M24**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Комисија предлаже да се наслов пријављене докторске дисертације који је гласио "Утицај полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишућег фактора раста- β на клиничке карактеристике, резултате

лечења и прогнозу болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија" промени у "Удруженост полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишући фактор раста- β са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија".

Одобрени циљеви истраживања и постављени циљеви у раду остали су исти. Примењена методологија истраживања идентична је са одобреном.

Докторска дисертација др Оливере Тарабар, написана на 109 страница, садржи следећа поглавља: Увод, Дефиниција проблема и циљеви истраживања, Испитаници и методологија рада, Резултати, Дискусија, Закључак и Литература. Рад садржи 26 табела, 8 слика и 1 фигуру, а у поглављу Литература цитирано је 217 библиографских јединица из иностраних стручних публикација.

У **уводном делу** и теоретском разматрању, кандидат је кратко, јасно и прецизно, користећи најсавременије литературне податке, изложио актуелна сазнања о етиологији и патогенези дифузних Б лимфома великих ћелија са посебним освртом на улогу имунорегулаторних цитокина (IL-10, TNF- α , TGF- β) у патогенези болести. Кандидат је изнео досадашња сазнања о полиморфизмима у генима за цитокине, о њиховом функционалном значају и удружености генских полиморфизама са ризиком за настанак лимфома. У уводном делу рада је истакнута и веома хетерогена природа дифузних Б лимфома великих ћелија, као и веома различит одговор на примењене облике лечења. Такође су детаљно изнети и бројни прогностички параметри болести према којима се оболели стратификују у групе ризика.

У следећем поглављу јасно су изложени **циљеви** истраживања обухваћени овом тезом. Први циљ истраживања се односио на испитивање учесталости генотипова у IL-10 (-3575, -1082, -819), TNF- α -308 и TGF- β Leu10Pro гену у здравих испитаника и оболелих од дифузног Б лимфома великих ћелија. Докторска дисертација је обухватала и два додатна циља: постојање повезаности између генотипова гена за IL-10, TNF- α и TGF- β и дефинисаних прогностичких параметара болести, тока и исхода лечења, као и удруженост генотипова испитиваних полиморфизама у генима за IL-10, TNF- α и TGF- β са исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија према примењеној терапији (хемиотерапија и имунохемиотерапија).

Испитаници и методологија рада је адекватно и прецизно презентована. У истраживање је укључено 84 болесника са новодијагностикованим дифузним Б лимфомом великих ћелија и 62 здрава испитаника која су чинила контролну групу испитаника. Болесници су подељени према јасно дефинисаним прогностичким параметрима болести и према облику примењене терапије. Експериментални део истраживања је обухватао изоловање ДНК из хепаринизираних венских крви болесника са лимфомом и здравих испитаника методом изољавања која је обухватала лизу еритроцита и леукоцита одговарајућим пуферима, инкубацију са протеиназом К и SDS/ом, таложење соли раствором NaCl високе концентрације и таложење ДНК апсолутним етанолом. Квалитет изоловане ДНК је провераван на 1% агарозном гелу након електрофорезе и бојења етидијум бромидом, а њена концентрација је одређивана помоћу спектрометра (GeneQuant, Pharmacia LKB, Švedska). Полиморфност гена за IL-10 (-1082, -819), као и полиморфност гена за TGF- β Leu10Pro је анализирана ARMS (Amplification Refractory Mutation System)-PCR методом. Ова метода се заснива на коришћењу специфичних PCR прајмера за сваку алелску варијанту. Паралелно са прајмерима за поједине алеле коришћени су и прајмери за умножавање интерне контроле, односно гена увек присутног у

геному. Полиморфност гена за TNF- α на позицији -308 је анализирано PCR-RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) методом и полиморфност гена за IL-10 -3575 је анализирана помоћу комерцијалног Taqman allelic discrimination assay-a rs 1800890 (Applied Biosystems, САД) на апарату 7500 Real-Time PCR Systems.

За статистичку обраду података коришћене су стандардни параметријски и непараметријски тестови. Резултати испитивања су систематично приказани и добро документовани, првенствено табелама и графикама. Добријени резултати нису потврдили статистички значајну разлику у учесталости генотипова у IL-10 (-3575, -1082, -819), TNF- α -308 и TGF- β Leu10Pto гену у здравих испитаника и болесника са дифузним Б лимфомом великих ћелија. Показана је статистички значајна повезаност између генотипова у IL-10 -3575 и TGF- β Leu10Pto гену и неповољних прогностичких параметара болести. Присуство TNF- α -308 GA/GA генотипа било је значајно удружено са неповољним резултатима преживљавањем болесника лечених R-CHOP имунохемотерапијом.

Полиморфизми у IL-10 (-1082, -819) гену нису повезани са током болести и исходом лечења болесника са лимфомом. У истраживању није уочена статистички значајна разлика у преживљавању између болесника лечених CHOP и R-CHOP терапијом у односу на генотипове IL-10, TNF- α и TGF- β гена.

У поглављу **Дискусија**, кандидат детаљно објашњава резултате свог истраживања и пореди их са литературним подацима других аутора из ове области, истовремено указујући на различите светске ставове везане за ову тематику, како у погледу учесталости испитиваних генских полиморфизама, тако и у погледу њихове повезаности са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија. Презентован је и критички коментар сопствених резултата уз детаљно тумачење проистеклих сазнања о удружености полиморфизама у генима за цитокине са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија.

На основу претходно изнетих чињеница, комисија сматра да завршена докторска дисертација под насловом "Удруженост полиморфизама гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформациони фактор раста- β са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија" по облику и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања приказани су у следећим закључцима:

- Полиморфизми у IL-10 (-3575, -1082), TNF- α -308 и TGF- β Leu10Pto гену нису фактори ризика за настајак дифузних Б лимфома великих ћелија.

- Полиморфизми у IL-10 -3575 и TGF- β Leu10Pto гену су повезани са неповољним клиничким карактеристикама оболелих од лимфома

- IL-10 -3575 TA/AA генотип је удружен са присуством општих (Б) симптома болести

- Болесници са TGF- β LeuPro/ProPro генотипом имају значајно чешће неповољан клинички стадијум (CS III/IV) болести и интермедијарно-висок/висок IPI скор.

- Полиморфизам у TNF- α -308 G/A гену је удружен са преживљавањем болесника лечених R-CHOP имунохемиотерапијом.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

- Удруженост полиморфизама у генима за цитокине са неповољним клиничким карактеристикама болести и исходом лечења оболелих са дифузним Б лимфомом великих ћелија доприноси разјашњењу комплексне и хетерогене клиничке слике којом се болест презентује, као и бољем разумевању различитог одговора оболелог на поједине облике терапије.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати истраживања добијени током израде докторске дисертације ће бити публиковани у часопису међународног значаја и презентовани на стручним скуповима.

ЗАКЉУЧАК

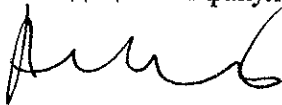
Комисија за оцену завршне докторске дисертације кандидата др Оливере Тарабар под називом "Удруженост полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишући фактор раста- β са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија" сматра да је истраживање у оквиру тезе адекватно постављено и спроведено, да су резултати одговарајуће обрађени, а изведени закључци валидни.

Значај генских полиморфизама на ток дифузних Б лимфома великих ћелија, као и њихова повезаност са одговором на поједине облике терапије, доприноси да је спроведено истраживање у овој докторској дисертацији, оригинално и актуелно.

Комисија предлаже Изборном већу Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација "Удруженост полиморфизма гена за интерлеукин-10, фактор некрозе тумора- α и трансформишући фактор раста- β са током болести и исходом лечења дифузних Б лимфома великих ћелија" кандидата др Оливере Тарабар буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

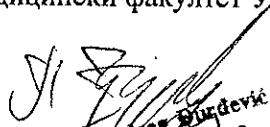
1. Проф. др Небојша Арсенијевић, председник
Редовни професор за уже научне области
Микробиологија и имунологија и Основи онкологије,
Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу



2. Проф. др Звонко Магић, члан
Редовни професор за ужу научну област
Генетика, Војномедицинска академија Београд



3. Доц. др Предраг Ђурђевић, члан
Доцент за ужу научну област
Патолошка физиологија,
Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу



Doc dr Predrag Djurdjevic
internista-hematolog

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

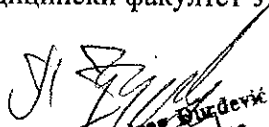
1. Проф. др Небојша Арсенијевић, председник
Редовни професор за уже научне области
Микробиологија и имунологија и Основи онкологије,
Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу



2. Проф. др Звонко Магић, члан
Редовни професор за ужу научну област
Генетика, Војномедицинска академија Београд



3. Доц. др Предраг Ђурђевић, члан
Доцент за ужу научну област
Патолошка физиологија,
Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу



Doc dr Predrag Djurdjevic
internista-hematolog