

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

1. Одлука Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-1523/7-2 од 20.02.2013. год, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **др мед. Снежане Сретеновић** под називом:

“ Утицај генског полиморфизма *bcl-2+* и *tuc+*, утврђених *FISH*-ом на прогнозу болесника са дифузним Б крупноћелијским лимфомом лечених имунохемотерапијом”.

На основу одлуке Наставно-научног већа, формирана је Комисија у саставу:

1. Доц. др Слободанка Митровић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, председник
2. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, члан
3. Проф. др Биљана Михаљевић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Интерна медицина – Хематологија, члан

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

**ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ НАУЧНЕ ЗАСНОВАНОСТИ ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Кандидат **др мед. Снежана Сретеновић**, испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Медицинског факултета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

2.1. Биографија кандидата

А. Лични подаци

Снежана Сретеновић рођена је 20.02.1967.године у Горњем Милановцу. Основну и Средњу Медицинску школу “Сестре Нинковић” завршила је као носилац Вукове дипломе. Медицински факултет Универзитета у Крагујевцу уписала је школске 1986/87, а дипломирала маја 1993.године са просечном оценом 9,11 и тиме стекла звање доктора медицине уз награду као један од најбољих дипломаца Универзитета у Крагујевцу. Обавила је општи лекарски стаж у Крагујевцу и положила стручни испит 1994. године. Радила је као стручни сарадник при Медицинском факултету у Крагујевцу, од 01.04.1994.године до 15.01.1996.године, када прелази у КБЦ Крагујевац и започиње специјализацију из Интерне медицине. На Медицинском факултету у Београду полаже специјалистички испит 2001.године са одличном оценом и стиче звање специјалисте интерне медицине. Субспецијализацију уже области хематологија - уписује школске 2005/2006. године на Медицинском факултету Универзитета у Београду, усмени испит полаже децембра 2006.године, а априла 2008.године брани рад уже специјализације под називом ”Анализа ефеката лечења болесника са Дифузним крупноћелијским Б лимфомом хемиотерапијом vs. имунохемотерапијом“. Одбраном рада стиче звање субспецијалисте хематологије. Докторске академске студије, изборно подручје Клиничка и експериментална интерна медицина, уписала је 2009. године на Медицинском факултету Универзитета у Крагујевцу, усмени докторски испит је положила у јуну 2011. године са оценом 10. Члан је Лекарске коморе Србије, Српског лекарског друштва, Српске лимфомске групе и Европског удружења хематолога. Удата је и мајка двоје деце.

Б. Научно истраживачки рад

Кандидаткиња, др **Снежана Сретеновић**, уз клинички рад, активно се бави и научно-истраживачким радом у Клиници за Хематологију КЦ Крагујевац. Као аутор или коаутор објавила је 28 радова, од којих је 5 објављено у целини.

Објавила је један рад у целости, као први аутор, у часопису од националног значаја и више сажетака на међународним и домаћим научним скуповима. По том основу, а у складу са чланом 177. Статута Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, остварила је 12,7 бодова и услов за пријаву докторске теме.

В. Подаци о објављеним радовима

V.1. Радови објављени у часописима међународног значаја (категорија M20)
нема

V.2. Саопштења на међународним научним скуповима: (категорија M30)

2.1. **Sretenović S**, Martinović-Čemerikić V, Jovanović D, Anđelković N, Đurđević P, Necin-Jovanović Ž, Stojanović V, Todorović M, Mihaljević B. Double-hit non- Hodgkin’s

lymphoma – therapeutic problem. European School of Oncology-Educational Cancer Convention Lugano. Critical reviews in Oncology, 2012; 82(Suppl 1): S21-S22.

M34/ 0.5 бодова

2.2. Mihaljević B, Antić D, Anđelić B, Todorović M, Vukićević T, Nikolić V, Pejičić I, Petković I, Popović L, Anđelković N, **Sretenović S**, Smiljanić M, Marković O. Prognostic significance of the ki-67 index in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with rituximab plus CHOP-experience of Serbian Lymphoma Study Group. Abstract Book, 16th Congress of the European Hematology Association, London-June 2011; 96(Suppl 2):575-576.

M34 /0.5 бодова

2.3. Jovanović D, Đurđević P, Anđelković N, **Sretenović S**, Živić Lj. Flow cytometric diagnosis of concomitant chronic lymphocytic leukemia and acute myeloid leukemia – case report. Cytometry part B-clinical cytometry, 2011; 80B(6):412-412.

M34 /0.5 бодова

2.4. Mihaljević B, Anđelić B, Antić D, Todorović M, Vukićević T, Nikolić V, Pejičić I, Petković I, Popović S, Savić I, Popović L, Anđelković N, **Sretenović S**, Knežević J, Kecman V. Diffuse Large B-cell Lymphoma: Germinal Centre vs Non Germinal Centre – Treatment Response on Immunochemotherapy. Serbian Lymphoma Study Group. Annals of Oncology 2011;(22):224-225.

M34 /0.5 бодова

2.5. Mihaljević B, Antić D, Anđelić B, Vukićević T, Nikolić V, Pejičić I, Petković I, Popović S, Popović L, Anđelković N, **Sretenović S**, Leković D, Smiljanić M, Marković O, Knežević V, Kecman V. Characteristics of 917 Non- Hodgkins Lymphoma Patients in Serbia According to the WHO Classification of Lymphoid Neoplasms – Lira National Register – Based Study. Annals of Oncology 2011;(22):204-204.

M34 /0.5 бодова

2.6. Agić D, Savić I, Popović S, Perčić I, Kvirgić V, Sekulić B, Anđelić B, Antić D, Popović L, Jovanović D, Vukićević T, Anđelković N, Vrbic S, Nikolić V, **Sretenović S**, Mihaljević B. Raširenost bolesti kod bolesnika sa difuznim krupnoćelijskim B limfomom u Srbiji. 2. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p20-22.

M34 /0.5 бодова

2.7. Nikolić V, Antić D, Anđelić B, Todorović M, Vukićević T, Pejičić I, Petković I, Popović S, Popović L, Anđelković N, **Sretenović S**, Marković O, Knežević J, Mihaljević B. Prognostički značaj ki-67 indeksa u bolesnika sa difuznim krupnoćelijskim B- limfomom koji su lečeni rituximabom plus CHOP – iskustva srpske limfomske grupe. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p23-25.

M34 /0.5 бодова

2.8. **Sretenović S**, Anđelković N, Antić D, Anđelić B, Vukićević T, Nikolić V, Popović S, Popović L, Marković O, Knežević J, Mihaljević B. Prospektivna neselektivna studija bolesnika sa limfoidnim neoplazmama u Srbiji. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p26-29.

M34 /0.5 бодова

2.9. **Sretenović S**. Thrombosis complications in patient with autoimmune hemolytic anemia, hyperhomociteinemia and syndrome antiphospholipidum at the same time.

Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p129.

M34 /0.5 бодова

2.10. Antić D, Agić D, Todorović M, Đunić I, Novaković V, Bogunović M, Đurđević P, Milošević I, Milošević R, **Sretenović S**, Popović S, Anđelković N, Mihaljević B. Rituximab u kombinaciji sa hemioterapijom u prvoj liniji terapije bolesnika sa hroničnom limfatičnom leukemijom RHLL1-iskustva srpske limfomske grupe. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011:137.

M34 /0.5 бодова

2.11. Čemerikić V, Drndarević N, Anđelković N, Đurđević P, **Sretenović S**, Necin-Jovanović Ž, Mitrović S, Bajić B, Selaković D. Fluorescentna in situ hibridizacija u diferencijalnoj dijagnozi Non- Hodgkinovih limfoma nekarakterističnog imunofenotipa. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p163.

M34 /0.5 бодова

2.12. Jovanović D, Đurđević P, Bajić B, Anđelković N, Živić LJ, **Sretenović S**, Necin-Jovanović Ž, Stojanović V. NK/T ćelijski limfom- nasal type koji se prezentuje difuznim kožnim lezijama-prikaz slučaja. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p164.

M34 /0.5 бодова

2.13. Mihaljević B, Jovanović D, Anđelković N, Popović S, Vukićević T, Anđelić B, Popović L, Todorović M, Vlaisavljević N, Sretenović A, Đurđević P, **Sretenović S**, Janković S, Marković O, Marjanović G, Vrbic S, Hajder J, Živić D. Primena rituximaba u kombinaciji sa hemioterapijom kod bolesnika sa relaps/ refrakternim folikularnim NHL – iskustva srpske limfomske grupe. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p166.

M34 /0.5 бодова

2.14. **Sretenović S**, Mihaljević B, Anđelković N, Anđelić B, Jaković LJ, Janković S, Jančić-Nedeljkov R, Prognostički činioci kod obolelih od difuznog krupnoćelijskog B- limfoma. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p175.

M34 /0.5 бодова

2.15. **Sretenović S**, Martinović-Čemerikić V, Jovanović D, Anđelković N, Đurđević P, Necin-Jovanović Ž, Stojanović V, Todorović M, Mihaljević B. Transformacija Non Hočkin limfoma marginalne zone u difuzni krupnoćelijski B limfom – klinički izazov i dilema- prikaz bolesnika. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p176.

M34 /0.5 бодова

2.16. Mihaljević B, **Sretenović S**, Anđelković N, Janković S, Nedeljkov-Jančić R, Anđelić B, Jaković LJ. Analiza preživljavanja bolesnika sa difuznim B krupnoćelijskim limfomom u odnosu na internacionalni prognostni indeks i verovatnoća pojave recidiva u dva terapijska modaliteta hemioterapija vs imunochemoterapija. Kongres hematologa Srbije, 6th Balkan Day of Haematology, Beograd 4–7 Novembar, Abstract Book, 2011; p176.

M34 /0.5 бодова

2.17. **Sretenović S.** Erythrocytosis secundaria and polycitemia vera et sine time - case. 5th Congress of Internal medicine for the South –Eastern Europe, Beograd 6–9 mart, Abstract book, 2009; 2 (Suppl 1): p29.

M34 /0.5 бодова

2.18. **Sretenović S.** Polycitemia vera or erythrocytosis secundaria. 5th Congress of Internal medicine for the South–Eastern Europe, Beograd 6–9 mart, Abstract book, 2009; 2 (Suppl 1): p29.

M34 /0.5 бодова

B.3. Часописи националног значаја (категорија M50)

3.1. **Sretenović S,** Mihaljević B, Anđelković N, Anđelić B, Jaković LJ, Janković S, Jančić-Nedeljkov R. Prognostički činioci kod obolelih od difuznog krupnoćelijskog B limfoma. Timočki medicinski glasnik, 2012; 37(2): 65-73.

M53 /1 бод

3.2. Đurđević P, Radovanović D, **Sretenović S,** Necin-Jovanović Ž, Živić D, Bogojević R, Đukić S, Anđelković N. Burkitts lymphoma as possible cause of acute abdomen – case report. Serbian Journal of Experimental and Clinical Research, 2008; 9(3):111-115.

M52 /1,5 бодова

3.3. Đukić S, Anđelković N, Đurđević P, **Sretenović S,** Necin-Jovanović Ž, Đukić A, Arsenijević N. Antifosfolipidni sindrom: kliničko stanje koje se nedovoljno često prepoznaje. Medicinski časopis, 2008; 1: 48 – 56.

Није категорисан

3.4. **Sretenović S.** Polycytemia vera ili erythrocytosis secundaria. Internist, 2009;1(1):23-28.

Није категорисан

3.5. **Sretenović S.** Non-Hodgkin lymphoma – ekстранодална локализација. Internist, 2010; 2(3): 159-163.

Није категорисан

B.4 Саопштења на домаћим научним скуповима: (категорија M60)

4.1. **Sretenović S,** Jovanović D, Đurđević P, Anđelković N, Bila J. Lumbalni sindrom ili nešto sasvim drugo–prikaz bolesnika. Zbornik sažetaka, XII Kongres Udruženja Internista Srbije, Vrnjačka Banja 7–10 jun, 2012;44-45.

M64/0,2 бода

4.2. **Sretenović S,** Jovanović D, Anđelković N, Đurđević P, Necin-Jovanović Ž, Stojanović V, Čemerikić V. Petogodišnja analiza obolelih od Multiplog mijeloma – jednostavna dijagnostika kasno prepoznavanje. Zbornik sažetaka, XII Kongres Udruženja Internista Srbije, Vrnjačka Banja 7–10 jun, 2012;45-46.

M64/0,2 бода

4.3. **Sretenović S,** Živić D, Necin-Jovanović Ž, Stojanović V. Anemija - posledično stanje drugih bolesti. II kongres Opšte Medicine Srbije sa međunarodnim učešćem, Kopaonik 23-26 septembar, Zbornik sažetaka, 2011: 172.

M64/0,2 бода

4.4. **Sretenović S, Živić D.** Thrombophilia–abnormality in the system of coagulation–case. X Kongres Udruženja Internista Srbije, 9-12 juni, Beograd, Knjiga rezimea, 2010; 2 (Supl 2): p43.

M64/0,2 бода

4.5. **Sretenović S.** Non–Hodgkinov lymphoma–ekstranodalna lokalizacija. X Kongres Udruženja Internista Srbije, 9-12 juni, Beograd, Knjiga rezimea, 2010; 2(Supl 2):p43.

M64/0,2 бода

4.6.**Sretenović S.** Trombophilia–abnormality in the system of coagulation–case. Prvi kongres privatne lekarske prakse Srbije, Beograd, 1–2 oktobar, Abstrakti, 2009:p76.

M64/0,2 бода

2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

Наслов:

“Утицај генског полиморфизма *bcl-2+* и *tuc+* утврђених *FISH*-ом на прогнозу болесника са дифузним Б крупноћелијским лимфомом лечених имунохемотерапијом“

Предмет:

Дифузни Б крупноћелијски лимфом (ДБКЛ) представља дифузну пролиферацију великих неопластичних Б лимфоцита која је веома хетерогена, како на клиничком тако и на генетском и молекуларном нивоу. Различитост је условљена стањем болесника, проширеношћу болести, подтипом ДБКЛ, генетским аберацијама, експресијом и мутацијом различитих гена. Ово је најчешћи облик лимфома и чини око 30-40% свих. Спада у групу агресивних лимфома што значи да нелечен доводи до леталног исхода за пар месеци. Симптоми и клинички знаци оболелих, могу се поделити на оне узроковане туморском масом и опште симптоме. Клинички прогностички фактори укључени у интернационални прогностички индекс (ИПИ, енгл: *international prognostic index*) користе се за процену исхода код болесника са ДБКЛ више од 10 година. Наведени прогностички модел, као ни ревидирани ИПИ, није доказао клинички значај у смислу побољшања резултата лечења када су примењивани са циљем индивидуализације терапије. Стални су покушаји изнајлажења нових морфолошких или молекуларних маркера који би имали прогностички и предиктивни значај. Имунохистохемијски чинилац, експресија *bcl-2*, *X* везаних инхибитора апоптозе, *CD5+*, *HLA DR*, повезују се с лошијом прогнозом, а експресија *bcl-6* и *CD10* са повољним исходом. Дијагноза ДБКЛ се поставља на основу клиничке слике, лабораторијских параметара, патохистолошких налаза биопсије лимфне жлезде и/или биопсије косне сржи, имунофенотипских карактеристика доказаних имунохистохемијским методом, као и урађеним *MSCT*-ом грудног коша и абдомена који ће показати степен проширеност болести тј омогућити њено стадирање по *Ann Arbor* класификацији. У корелацији са прогнозом болести је ИПИ који је установљен још 1993. године и по коме се утврђује начин лечења. У процени прогнозе болести се користи старост болесника, ниво лактат дехидрогеназе, ECOG (енгл:), клинички стадијум и екстранодална захваћеност, чији збир утврђује вредност ИПИ–а. ИПИ–прилагођен старости

пацијента (енгл: *age adjusted IPI*) се користи за млађе од 60 година, а одређују га клинички стадијум болести, вредност серумске лактат дехидрогеназе и постојање екстранодалне локализације болести. Вредности ИПИ скорa се одређују : 0-1/низак, 2-средње низак, 3-средње висок, и 4-5/ висок ризик. Скор ИПИ-прилагођеног старости пацијента може бити: 0-низак,1-средње низак, 2-средње висок и 3-висок. И данас се ИПИ сматра златним стандардом с којим се упоређују сви остали потенцијални прогностички параметри. Развојем технологије генског чипа омогућено је анализирање великог броја гена из туморског ткива, али обзиром на тешку изводљивост и високу цену ове методологије показано је да се и имунохистохемијским анализама и флуоросцентном *in situ* хибридизацијом (енгл: FISH - *fluorescence in situ hybridization*) могу утврдити генски полиморфизми. *Bcl-2*, као антиапоптоски протеин игра важну улогу у развоју и диференцијацији Б лимфоцита. Његова експресија у ДБКЛ је у већини студија на болесницима лечених само хемиотерапијом, повезана са резистенцијом на хемотерапију и лошијом прогнозом. Прекомерна експресија *bcl-2* протеина у лимфомима је последица хромозомске транслокације t-14,18(q 32:21) или амплификације на положају 18q21 где се налази ген који кодира његову синтезу. Продукт *muc* гена /8q24/ је транскрипциони протеин који контролише велики сет циљних гена који учествују у ћелијском циклусу, метаболизму, репарацији ДНК-а, одговору на стрес и синтези протеина. Ниска експресија би могла бити заштита од *muc* индуковане генске нестабилности у герминативном центру лимфоног чвора. Удруженост (енгл: *double hit*) *bcl-2* и *muc* позитивности (*bcl-2+/muc+*), чини већину лимфома - 62% према *Mitelman*-овој бази података. Истраживања која обједињавају генетске карактеристике болесника и факторе везане за тумор (имунохистохемијски маркери) у комбинацији с клиничким показатељима, јесу кључни за прогнозу и индивидуализацију терапије оболелих од лимфома. Планираним истраживањем би се утврдило, на основу ИПИ скорa као признатог прогностичког параметра, код којих болесника треба обавезно учинити генску анализу и тако индивидуализовати терапију већ на презентацији, јер ће се знати ко неће повољно одговорити на стандарну терапију.

Први циљ предложене студије јесте да утврди утицај генског полиморфизма *bcl-2+* и *muc+*, како појединачни тако и удружени, на терапијски одговор у болесника са дифузним Б крупноћелијским лимфомом третираних стандардном имунохемиотерапијом. Други циљ је да утврди коју групу пацијената, према ИПИ скору, као признатом прогнозном параметру, треба обавезно тестирати на генски полиморфизам и тако индивидуализовати терапијски приступ без непотребног исцрпљивања болесника стандарном терапијом. Сходно томе циљеви студије су да утврди прогностичке параметре код болесника са ДБКЛ лечених имунохемиотерапијом кроз утицај *bcl-2+* , *muc+* и удруженог полиморфизма (енгл: *double hit*) *muc+* и *bcl-2+* на терапијски одговор, као и утврђивање повезаности ИПИ скорa и полиморфизма *muc+* и *bcl-2+* (појединачне и удружене).

Хипотезе:

1. Дифузни Б крупноћелијски лимфом који је *bcl-2+* (енгл: *single mutation*), показује лошији одговор на примењену имунохемиотерапију од *bcl-2* – лимфома.

2. Дифузни Б крупноћелијски лимфом који је *mys+* (енгл: *single mutation*), показује лошији одговор на имунохемиотерапију од *mys* - лимфома.
3. Постојање *mys+* и *bcl-2+* истовремено (енгл: *double hit mutation*) показује лошији одговор на терапију у односу на *mys-* и *bcl-2-* дифузне Б крупноћелијске лимфоме
4. Постоји значајна разлика у присутности генског полиморфизма код болесника са ниским и средње ниским ИПИ-ом и оних са средње високим и високим ИПИ-ом.
5. Упоредна анализа прогнозног значаја двоструких мутација (енгл: *double hit mutation*) и ИПИ скорa у одговору на примењену имунохемиотерапију оболелих од ДБКЛ.

2.3. Подобност кандидата

Кандидат, Снежана Сретеновић положила је усмени докторски испит јуна 2011. године са оценом 10 (десет). Објавила је пет радова у часописима од националног значаја, од тога један рад као први аутор, чиме је испунила услов за пријаву докторске тезе.

2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Bcl-2, као антиапоптоски протеин, игра важну улогу у развоју и диференцијацији Б лимфоцита. Његова експресија у ДБКЛ је у већини студија на болесницима лечених само хемиотерапијом, повезана са резистенцијом на хемиотерапију и лошијом прогнозом. Појачана експресија *bcl-2* протеина у лимфомима последица је хромозомске транслокације t-14,18(q 32:21) или амплификације на 18q21 где се налази ген који кодира синтезу *bcl-2* протеина. *Myc* протеин је транскрипциони фактор који контролише велики сет циљних гена у ћелијском циклусу, метаболизму, репарацији ДНК, стрес одговору и синтези протеина. Ниска експресија би могла бити заштита од *mys* индуковане генске нестабилности у герминативном центру. Удруженост *bcl-2* и *mys* мутација чини већину „*double hit*“ лимфома. Постојање мутација *bcl-2* и *mys* је утврђено и код болесника са ДБКЛ за чију идентификацију у овој подврсти лимфома је порасло интересовање научне јавности посебно током пар претходних година. Учесталост ових мутација, како појединачно, тако и удружено је утврђивана у више студија. У њима, болесници нису груписани према прогностичким параметрима, као што је ИПИ који ће се користити у овом истраживању, већ је укључена широка популација болесника са различитим типовима неходжкинских лимфома и различитих прогностичких карактеристика.

2.5. Значај и циљ истраживања са становишта актуелности у одређеној научној области

Главни циљеви испитивања:

1. Утврђивање прогностичког значаја генског полиморфизма *bcl-2+* и *mys+*, како појединачног тако и удруженог, на терапијски одговор код болесника са ДБКЛ третираних имунохемиотерапијом.
2. Дефинисање групе пацијената, према ИПИ скору, коју треба тестирати обавезно на генски полиморфизам и тако индивидуализовати терапијски приступ.

У складу са основним циљем постављени су следећи задаци:

1. Утврђивање утицаја *bcl-2+* на терапијски одговор
2. Одређивање утицаја *mys+* на терапијски одговор
3. Одређивање утицаја удруженог полиморфизма *bcl-2+/mys+* на терапијски одговор
4. Дефинисање могуће повезаности појединачног и удруженог генског полиморфизма *bcl-2+* и *mys+* и ИПИ скорa.

2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Постојање генског полиморфизма *bcl-2+* и *mys+*, појединачног или удруженог, се показао као лош прогностички параметер одговора на примењену хемиотерапију у различитим нехочкинским лимфомима. Учесталост овог генског полиморфизма није искључиво утврђивана у агресивном ДБКЛ. Повезаност између ИПИ скорa и генског полиморфизма до данас није проучавана. Планираним истраживањем требало би одговорити и на питање колика је заступљеност генског полиморфизма одређеног *FISH*-ом у нашој популацији, као и каква је његова повезаност са ИПИ скором код болесника са агресивним ДБКЛ.

2.7. Методе истраживања

Планирано истраживање ће представљати клиничку студију која ће се спровести у Клиници за Хематологију, Клиничког Центра у Крагујевцу. Студија ће бити ретроспективна и компаративна, јер ће упоређивати тестиране параметре између болесника са ниским и средње ниским ИПИ-ом који су контрола експерименталне групе болесника који имају средње висок и висок ИПИ. Обе групе болесника су при том третиране имунохемиотерапијом. У студију је укључено 80 болесника оболелих од ДБКЛ до марта 2010. године, којима је дијагноза постављена на основу клиничких, лабораторијских и имунофенотипских карактеристика узоркованог ткива и биопсије кости, а ИПИ скор прорачунат по стандардном методу, са пресеком и проценом, након укључења 40 болесника. Свим болесницима је урађена мултислајсна компјутеризована томографија грудног коша и абдомена на презентацији и након завршене терапије. Крв за анализу узимана је у јутарњим сатима, у количини од 20мл. Из овог узорка је одређивана комплетна крвна слика и серумска лактат дехидрогеназа. Свим испитаницима је узиман узорак костне сржи, биопсијом кости у локалној анестезији, по стандардном приципу. Ткивни узорак биотиране кости је фиксиран у формалину, и након декалцинације калупљен у парафин. Калупи ткива су сечени на 3-5 микрона дебеле резове за даљу, јасним протоколима дефинисану имунохистохемијску и *FISH* анализу, којима се одређивао имунофенотип туморских ћелија и утврђивала *bcl-2+* и *mys+* ДБКЛ.

Врста студије

Ретроспективна клиничка студија:

Студија је ретроспективна и компаративна, упоређује тестиране параметре оболелих од ДБКЛ у оквиру стандардног стажирања болесника са ниским и средње ниским ИПИ-ом, који су контрола експерименталне групе са средње високим и високим ИПИ-ом. Извор података је писана медицинска документација – историје болести. Обе групе су третиране имунохемиотерапијом. Биће укључено 80 оболелих од ДБКЛ, са пресеком након укључења 40 болесника.

Снага студије и величина узорка

Прорачун величине узорка је заснован на подацима претходних студија о учесталости мутација *bcl-2+* и *mys+* код болесника са ДКБЛ. Учесталост ових мутација, како самостално, тако и удружено, је утврђивана у више студија. У њима, болесници нису разврставани према прогностичким параметрима, као што је ИПИ који ће се користити у овом истраживању, већ је укључена широка популација болесника, различитих прогностичких карактеристика. Због тога је, као примарни исход, узет комбиновани параметар, присуство било које од ове две мутације, самостално или удружено. На основу резултата осам референтних студија, формиран је низ збирне учесталости са средњом вредношћу од 21%, медијаном 17%, минимумом од 4% и максимумом од 43%. Према подацима других аутора, болесници са двоструком мутацијом ових гена имају врло високу учесталост узнапредовалих стадијума болести и неповољни прогностички индекс (и до 100%). Зато је претпостављено да ће у експерименталној студијског групи бити знатно већа учесталост ових мутација него у контролној групи болесника. Као значајна разлика, претпостављен је интерквartilни ранг поменутог низа учесталости, који износи 26 (9-35) и који је узет за прорачун величине узорка. Снага студије је постављена тако да утврди, као статистички значајну, разлику у комбинованој учесталости мутација која је најмање 26%, при чему је у експерименталној групи (болесници са неповољним прогностичким скором) учесталост бар 35% а у контроли не већа од 9%. Коришћењем одговарајућег рачунарског програма, за *Chi*-квадрат тест, за два независна, проспективна узорка, уз алфа грешку од 5%, снагу студије од 80% и однос болесника у групама 1:1, добијен је узорак од по 39 болесника у групи, тако да је укупни студијски узорак утврђен на 80 болесника.

Статистичка обрада

Подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма *SPSS, 13.0*. Вредности нумеричких параметара биће тестирани батеријом статистичких тестова – Студентов Т-тест, за непараметарске анализе користиће се *Mann-Whitney*-ев тест. За процену предиктивне вредности појединих параметара користиће се логистичка регресија (код процене одговора на терапију). *Chi*-квадрат тест коришћен је за процену повезаности између квалитативних показатеља. Од описаних варијабли (дескриптора) коришћена је медијана и 95% интервали поузданости (енгл: *confidence interval*). Статистички значајном, сматрана је вредност $p < 0,05$ код које је одбацивана нулта хипотеза у нормалној расподели.

2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

Утврђујући присуство само *bcl-2+* или само *mys+*, очекивани резултат је лошији одговор на примењену имунохемотерапију у обе групе анализираних болесника независно од ИПИ-а. Истовремено постојање *bcl-2+* и *mys+*, условљава очекивани резултат рефрактерности на примењену имунохемотерапију.

Генски полиморфизам („*double hit*“ лимфоми) је независно лош прогностички параметар у односу на ИПИ, и очекује се да буду у корелацији са ИПИ скором у групи пацијената средње- високог и високог ризика.

2.9. Оквирни садржај дисертације

Очекивани закључак: Утврђивањем генског полиморфизма код болесника оболелих од ДБКЛ, утврдиће се корелација са клиничким параметрима и ИПИ скором, која ће постати стандард у основном стадирању болесника, а тиме ће детерминисати индивидуални терапијски третман сваког појединца и прецизније одредити прогнозу.

2.10. Предлог ментора

За ментора ове докторске тезе Комисија предлаже доц др Слободанку Митровић, доцента Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија. Доцент др Слободанка Митровић поседује стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и планираном методологијом, као и искуство и остварене резултате у развоју научно-наставног подмлатка.

2.11. Научна област дисертације

Медицина. Изборно подручје: Клиничка и експериментална интерна медицина

2.12. Научна област чланова Комисије

1. Доц др Слободанка Митровић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, председник

2. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, члан

3. Проф др Биљана Михаљевић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Интерна медицина – Хематологија, члан.

Закључак и предлог Комисије

1. На основу досадашњег научно-истраживачког рада и публикованих радова кандидат др мед. Снежана Сретеновић, испуњава све услове прописане Статутом Факултета медицинских наука и Законом о Универзитету, за одобрење теме и израду докторске дисертације.

2. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

3. Кандидат је овладао клиничким, дијагностичким и терапијским методама савремене хематолошке науке, које су неопходне за свеобухватну израду ове

комплексне теме о улози генског полиморфизма у одговору на стандардну имунохемиотерапију код оболелих од ДБКЛ.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата др мед. Снежане Сретеновић, под називом **"Утицај генског полиморфизма *bcl-2+* и *mys+* утврђених *FISH*-ом на прогнозу болесника са дифузним Б крупноћелијским лимфомом лечених имунохемиотерапијом"** и одобри њену израду.

У Крагујевцу, 14.03 .2013. године

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Доц др Слободанка Митровић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка анатомија, председник

2. Проф. др Александар Ђукић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, за ужу научну област Патолошка физиологија, члан

3. Проф др Биљана Михаљевић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Београду, за ужу научну област Интерна медицина – Хематологија, члан
