



**ИЗВЈЕШТАЈ**  
*о оијени подобности теме, кандидата и ментора за израду докторске  
дисертације*

**I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

Орган који је именовао комисију: Наставно-научно вјеће Медицинског факултета, Универзитет  
Бања Лука

Датум именовања комисије: 19.02.2018

Број одлуке: 18/3121/18

Састав комисије:

1. Проф др Ранко Шкрбић	Редовни професор	Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет, Универзитет Бања Лука		Предсједник комисије
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
2. Проф др Милена Тодоровић-Балинт	Ванредни професор	Интерна медицина/Хематологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Клиника за хематологију, Клинички центар Србије	Члан	
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
3. Доц. др Лана Нежић	Доцент	Фармакологија, токсикологија и клиничка фармакологија
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет, Универзитет Бања Лука	Члан	
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
4.		
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији

5. _____	Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
	Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији

## II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

1. Име, име једног родитеља, презиме: Данијела (Милан) Мандић
2. Датум рођења: 04.фебруар 1973 Мјесто и држава рођења:Дервента, Босна и Херцеговина

### II.1 Основне студије

Година уписа:  Година завршетка:  Просјечна оцјена током студија:

Универзитет:Сарајево (1991-1992) и Бања Лука (1992-1999)

Факултет/и: Медицински факултет Сарајево (1991-1992); Медицински факултет Бања Лука (1992-1999)

Студијски програм: медицина

Звање:доктор медицине

### II.2 Мастер или магистарске студије

Година уписа:  Година завршетка:  Просјечна оцјена током студија:

Универзитет:Бања Лука

Факултет/и:Медицински факултет

Студијски програм: Биомедицинска истраживања

Звање: магистар медицинских наука

Научна област: Интерна медицина, фармакологија

Наслов завршног рада: Процјена безбједности прописаних лијекова код старијих лица у геријатријским центрима

### II.3 Докторске студије

Година уписа:

Факултет/и:

Студијски програм:

Број ЕЦТС до сада остварених:  Просјечна оцјена током студија:

#### **II.4 Приказ научних и стручних радова кандидата**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија <sup>1</sup>
1.	Jotanović Nada, Nežić L, Vučen M, Lakić D, Đukić B, Mandić D. Inappropriate prescribing in elderly population in primary health care, Biomedicinska istraživanja 2016, 7(2): 168-77. (бр. страна 10) (Оригинални научни рад у научном часопису националног значаја)	
<i>Кратак опис садржине:</i> У овом раду аутори су се бавили проблемима повезаним за примјену лијекова код особа старије животне доби. Особе старије животне доби су усљед постојећих коморбидитета изложене повећаном ризику због неодговарајућег прописивања лијекова. Циљ рада је био да се утврди учесталост неодговарајућег прописивања лијекова, инетракција и потенцијално изостављање лијекова индикованих у одређеним болестима према критеријумима <i>Screening Tool of Older Person's potentially inappropriate prescriptions/Screening Tool to Alert doctors to the Right Treatment (STOPP/START)</i> и протоколу аутора Мимица-Матановић, Влаховић-Палчевски (2012). Истраживање је било студија пресјека која је проведена у три амбуланте породичне медицине и обухватило је 88 пацијената, старости $\geq 65$ година. У анализи је коришћена медицинска историја са тренутно прописаним лијековима уз примјену наведених критеријума. Резултати су показали да је укупан број прописаних лијекова био 58, а број прописаних лијекова по болеснику је био у интервалу 3-9. Према STOPP критеријуму утврђен је 41 случај неодговарајућег прописивања лијекова, најчешће дугодјелујућих бензодиазепина и деривата сулфонилуреје, дигоксина у дози преко 125 mcg/дан и нитрата. Према критеријуму Мимица-Матановић и Влаховић-Палчевски утврђено је да су 63 лијека имала неодговарајући однос бенефит/ризик код 54 (61,3%) болесника. Користећи START критеријум утврђен је изостанак примјене 61 неопходан лијека у одређеној индикацији код 33 (37,5%) болесника, и то најчешће ацетил-салацилне киселине, статина, антикоагуланата и бета блокатора. Установљене потенцијалне интеракције лијекова су се односиле на двоструку или троструку антиагрегациону терапију, дигоксин и фуросемид, комбинацију агониста и антагониста допамина (ропинирол и халоперидол). Аутори су закључили да је примјена одговарајућих критеријума корисна за утврђивање неодговарајућег прописивања и побољшање безbjednosti примјене лијекова.		
<i>Рад припада проблематици докторске дисертације:</i>	ДА	НЕ
	<u>ДЈЕЛИМИЧНО</u>	

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
2.	Ćurguz A, Nežić L, Mandić D. Lijekovima izazvana oštećenja jetre: patogeneza, kliničke karakteristike i monitoring, Scrip Med 2016, 47:140-7. (бр.страна 8) (Прегледни научни рад у научном часопису)	

<sup>1</sup> Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публиковању научних публикација („Службени гласник РС“, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС“, бр. 102/14).

	националног значаја)	
<p><i>Кратак опис садржине:</i> У овом раду аутори су приказали резултате истраживања о лијековима који најчешће изазивају оштећење јетре, дијагностичку процјену, мониторинг и исходе лијековима изазваног оштећења, објављене у публикацијама цитираним у научној медицинској бази MEDLINE/PubMed, у периоду од 2006. до 2015. године. Лијековима изазвана оштећења јетре (<i>drug induced liver injury-DILI</i>) су по учесталости ријетке, али потенцијално животно угрожавајуће нежељене реакције на лијекове. DILI, патофизиолошки и хистопатолошки, се тешко разликују од акутних и хроничних оболења јетре изазваних другим етиолошким узрочницима. Оштећење јетре може настати директно, дејством активне супстанце или индиректно, преко метаболита, а најчешће је дозно зависно и предвидљиво, или непредвидљиво, настало реакцијом идиосинкразије, имунолошке и неимунолошке патогенезе и највјероватније назависно од дозе примјењеног лијека. Инциденца DILI је у различитим регијама у свијету непозната, али се процјењује на 2-19 случајева/100.000 становника/годишње у европским и америчким истраживањима, односно преко 90 случајева/100.000 становника/годишње у азијским земљама. Антимикробни лијекови (амоксицилин/клавулонат, еритромицин, флуоклоксацин, изониазид), антиинфламаторни и аналго-анттипиретици (диклофенак, парацетамол), хиполипемијски лијекови (липофилни статини) и различити антиепилептици представљају најчешће лијекове које изазивају оштећења јетре. Савременим аналитичким поступцима до данас је откривено неколико поузданых биомаркера, иако ниједан није доволно специфичан и сензитиван за DILI, тако да се дијагностичка и прогностичка процјена DILI и даље заснована на клиничкој и фармаколошкој анамнези, важећим RUCAM критеријумима за DILI, те лабораторијским налазима јетрене функције.</p>		
<p>Рад припада проблематици докторске дисертације:      ДА      НЕ      <u>ДЈЕЛИМИЧНО</u></p>		

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
3.	Mandić D, Nezic L, Skrbic R. Severe hyperkalemia induced by propranolol. Med Preg 2014;(5-6):181-184 (бр.страница 4) Стручни рад у часопису међународног значаја (с рецензијом)	

*Кратак опис садржине:* Калијум је главни интрацелуларни катјон организма и одржавање равнотеже између интрацелуларног и екстрацелуларног простора посредован је с неколико механизама. Хиперкалијемија и хипокалијемија настају као послједица поремећаја механизма у одржавању хомостазе калијума. Озбиљна хиперкалијемија повећава ризик за настанак поремећаја ритма и рано препознавање електрокардиографских манифестијација (ЕКГ) је клинички веома значајно. Хиперкалијемија узрокована блокадом бета адренергичких рецептора јавља се код 1-5% пацијента, а најчешће је изазвана неселективним бета блокаторима. У овом раду је приказана пациентица с хиперкалијемијом и клиничким манифестијама у виду слабости, болова иза грудне кости и трњења у екстремитетима, која је узимала пропранолол због ангине пекторис. Лабораторијске анализе показале су хиперкалијемију (6,6 ммол/л), високе Т таласе и кориговани QT интервал од 510 мс. Након прекида примјене пропранолола долази до пада

нивоа калијума, нормализације електрокардиографских промјена и побољшања клиничког налаза. Узрочна повезаност између лијека хиперкалијемије класификована је као вјероватна према Нарањо скали за процјену вјероватноће скором 7 и *World Health Organization Uppsala Monitoring Centre* скалом вјероватноће. Хиперкалијемија може бити непредвидива и по живот опасна компликација примјене пропранолола и других неселективних бета блокатора и захтјева правовремену идентификацију и спровођење терапијских мјера.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:*      ДА      НЕ      ДЈЕЛИМИЧНО

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
4.	Mandić D, Nežić L, Škrbić R. Prolongacija QT intervala izazvana amitriptilinom, Scrip Med 2012, 43: 36-7. (бр.страна 2) <b>(Стручни рад у часопису националног значаја (с рецензијом))</b>	

*Кратак опис садржине:* Приказан је случај 65-годишње болеснице код које је установљена повезаност примјене амитриптилина и појаве палипитација са пролонгацијом QT интервала, четири мјесеца од почетка терапије. Електрокардиограм је показао продужење QTc од 505 милисекунди (ms). Амитриптилин је примјењен ради лијечења депресивне епизоде, истовремено са дуготрајном примјеном еналаприла у лијечењу артеријске хипертензије. Након прекида узимања амитриптилина дошло је до повлачења симптома и нормализације QTc на 420 ms. У раду је дат детаљан преглед фактора ризика и лијекова који доприносе пролонгацији QTc интервала и посљедичног развоја аритмија.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:*      ДА      НЕ      ДЈЕЛИМИЧНО

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
5	Mandić D, Stojčić B, Malinović J, Mrđa J, Lazarević S, Kezić Lj, Mirjanić J, Sladojević T. Incidenca non Hodgkin limfoma u Kliničkom centru Banja Luka u 2010.godini, II Kongres hematologa Srbije i IV Balkanski dani, Zbornik radova, 2011. (бр.страна 1) <b>(Научни рад на скупу међународног значаја, штампан у зборнику извода радова)</b>	

*Кратак опис садржине:* Учесталост non Hodgkin лимфома (НХЛ) износи 2,5% од свих малигнитета. Око 85% NHL су Б ћелијског фенотипа, а 15% чине лимфоми Т/НК ћелијског поријекла. Дифузни Б крупноћелијски лимфом обухвата 34% свих NHL. Циљ рада је био да се утврди учесталост NHL у односу на демографске карактеристике (доб, пол), клинички стадијум при постављању дијагнозе и подтип код пацијената лијечених у Клиничком центру Бања Лука у 2010. години. Резултати су показали да се учесталост NHL у односу на демографске карактеристике и подтип битније не разликују од од података утврђеним у студијама у другим земљама. Анализа географске дистрибуције показала је чешћу појаву болести у неким регионима: подручје општине Добој, Градишча и Пријedor. Утврђено је да није било значајних одступања присутних специфичних/неспецифичних симптома NHL који су показали изразиту варијабилност. Анализирана је и примјене важећих хемиотерапијских протокола, уз посебан осврт на појаву нежељених дејстава лијекова као и њихов утицај на квалитет живота пацијента.

Утврђено је да су најчешћа нежељена дејства била: алопеција, неутропеније, полинеуропатије и хипергликемије током примјене хемиотерапијских протокола. За дефинитивну потврду инциденце НХЛ у нашој популацији потребно је урадити детаљне епидемиолошке студије, укључивши пациенте који су лијечени ва Клиничког центра Бања Лука.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:* ДА НЕ ДЈЕЛИМИЧНО

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
6	Hotić-Lazarević S, Kezić Lj, Mandić D, Stojčić B, Malinović J, Mrdja J. Primarily localized non Hodgkin lymphoma of testis with relapse localized in buccal Area-case report, Leukaemia and Lymphoma: East end West Togheter, Liječnički vjesnik 133, 2011. (Научни рад на скупу међународног значаја, штампан у зборнику извода радова)	

*Кратак опис садржине:* Примарно локализовани лимфом тестиса је риједак и агресиван екстранодални нон Ходгкин лимфом. То је најчешћи тумор тестиса мушкираца старосне доби између 60-80 година. У овом раду је приказан пациент старости 56 година са примарно локализованим лимфомом тестиса, код кога је учињена орхиектомија у два различита периода, примјењена хемиотерапија и радиотерапија. Након 7 мјесеци по завршеној радиотерапији, а након прве дозе препарата тестостерон депоа, долази до појаве туморске творбе у обе букалне регије и лијеву субмандибуларну жлијезду. Урађена је биопсија и утврђено да се ради о релапсу болести. Примјењен је *salvage* протокол, након чега је пациент уведен у ремисију, а због агресивности болести је био кандидат за аутологну трансплантију матичних ћелија хематопоезе.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:* ДА НЕ ДЈЕЛИМИЧНО

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
7	Lazarević S, Kezić Lj, Mandic D, Mirjanić J, Sladojević T. Zastupljenost limfoma u Republici Srpskoj u trogodišnjem praćenju na osnovu imunohistohemijskih analiza, I kongres hematologa i transfuziologa Bosne i Hercegovine, Zbornik radova, 2011 (Научни рад на скупу националног значаја, штампан у зборнику извода радова)	

*Кратак опис садржине:* Аутори су у овом раду истакли значај савремене класификације лимфопролиферативних болести која се заснива на корелацији клиничких, морфолошких, хистолошких, имунофенотипских и цитогенетских карактеристика. Имунохистохемијске анализе су значајне како у дијагностици лимфома, тако и у одабиру оптималног терапијског модалитета, одређивања прогнозе, евалуацији резидуалне болести и релапса. Циљ истраживања је био да се утврди заступљеност појединих врста лимфома на основу имунохистохемијских анализа у периоду од 2007 до 2011. године на територији Републике Српске коју покрива Клинички центар Бања Лука. Резултати су показали да су најучесталија лимфопролиферативна оболења: non Hodgkin дифузни Б крупноћелијски лимфом, хронична лифоцитна леукемија и фоликуларни non Hodgkin лимфом. Код дифузног Б крупноћелијског лимфома једна трећина пацијента није постигла

задовољавајући одговор на примјењену прву и другу линiju терапије, уз чешћу појаву релапса, што намеће потребу за утврђивањем нових прогностичких маркера, који ће класификовати ове пациенте на почетку лијечења у ризичну групу уз корекцију терапијских модалитета прве линије лијечења.

*Рад припада проблематици докторске дисертације:*      ДА      НЕ      ДЈЕЛИМИЧНО

**Да ли кандидат испуњава услове?**      ДА      НЕ

### **III ПОДАЦИ О МЕНТОРУ/КОМЕНТОРА**

Биографија ментора:

**Проф др Милена Тодоровић Балинт (предложени ментор)**

#### **ACADEMIC OR SCIENTIFIC POSITION**

#### **AFFILIATION**

2014 – Associated professor of internal medicine at Medical faculty University of Belgrade

2008 – Assistant professor of internal medicine at Medical faculty University of Belgrade

1999 – Assistant at Medical faculty University of Belgrade

2015 – Head of Department for postgraduate studies in Hematology at Medical faculty University of Belgrade

2006 – Secretary of Department for postgraduate studies in Hematology at Medical faculty University of Belgrade

2009 – Chief of Department for high dose chemotherapy and autologous transplantation at Clinic for hematology Clinical centre of Serbia, Belgrade, Serbia

#### **EDUCATION :**

2005 – Hematology subspecialist

2004 – Ph.D. of Medical Science

1996 – Specialist of internal medicine

1994 – Master of Medical Science

1990 – Medical Faculty, University of Belgrade (class valedictorian, average mark 10)

#### **PARTICIPATION IN NATIONAL PROJECTS**

- 2002-2006 member of the research team of the project "The significance of biological markers in malignant blood diseases" M1916 Republic Ministry for Science (Head: Prof. Dr. Darinka Bošković)

- 2007-2011 member of the research team of the project "Molecular genetic markers of clonal transformation of hematopoietic stem cells", No. 145061B (Head: Prof. Dr. Milica Colovic)

- 2012-2016 member of the subproject No. 3: "Diagnostic and prognostic molecular markers in lymphoproliferative diseases" (Head: Prof. Dr. Biljana Mihaljević) within the Project of the Ministry of Science and Technology III (number 410004, Project leader: Scientific advisor Sonja Pavlović, PhD)

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница
1.	Antic D, Milic N, Nikolovski S, <b>Todorovic M</b> , Bila J, Djurdjevic P, Andjelic B, Djurasinovic V, Sretenovic A, Vukovic V, Jelicic J, Hayman S, Mihaljevic B. „Development and validation of multivariable predictive model for thromboembolic events in lymphoma patients. <i>Am J Hematol.</i> 2016 Oct;91(10):1014-9. (бр.страница 5)
2.	Mihaljevic B, Jelicic J, Andjelic B, Antic D, Markovic O, Petkovic I, Jovanovic MP, Trajkovic G, Bila J, Djurasinovic V, Sretenovic A, Vukovic V, Smiljanic M, <b>Todorovic Balint M.</b> FCG (FLIPI, Charlson comorbidity index, and histological grade) score is superior to FLIPI in advanced follicular lymphoma. <i>Int J Hematol.</i> 2016 Dec;104(6):692-695.
3.	<b>Todorovic Balint M</b> , Jelicic J, Mihaljevic B, Kostic J, Stanic B, Balint B, et al. Gene mutation profiles in primary diffuse large B cell lymphoma of central nervous system: Next generation sequencing analyses. <i>Inter J Mol Sci. Int J Mol Sci.</i> 2016 May 6;17(5). pii: E683. doi: 10.3390/ijms17050683.
4.	Jelicic J, <b>Todorovic Balint M</b> , Perunicic Jovanovic M, Boricic N, Micev M, Stojsic J, Antic D, Andjelic B, Bila J, Bela Balint <sup>5</sup> , Pavlovic S, Mihaljevic B. The role of lymphocyte to monocyte ratio, microvessel density and high CD44 tumor cell expression in Non Hodgkin lymphomas. <i>Pathol Oncol Res.</i> 2016 Jan 11. [Epub ahead of print] PMID:26750138
5.	Jelicic J, <b>Todorovic Balint M</b> , Raicevic S, Ilic R, Stanisavljevic D, Bila J, Antic D, Balint B, Andjelic B, Djurasinovic V, Sretenovic A, Vukovic V, Mihaljevic B. The possible benefit from total tumour resection in primary diffuse large B-cell lymphoma of central nervous system - a one-decade single-centre experience. <i>Br J Neurosurg.</i> 2016;30(1):80-5.
6.	Jelicic J, <b>Todorovic Balint M</b> , Sretenovic DA, Balint B, Perunicic Jovanovic M, Andjelic B, Vukovic V, Djurasinovic V, Bila J, Pavlovic M, Smiljanic M, Mihaljevic B. Enhanced International Prognostic Index (NCCN-IPI), Charlson Comorbidity Index and absolute lymphocyte count as predictors for survival of elderly patients with diffuse large B cell lymphoma treated by immunochemotherapy. <i>Neoplasma.</i> 2015;62(6):988-95.

7.	Todorovic M, Balint B, Andjelic B, Radisavljevic Z, Mihaljevic B. Switching to BCL-6 negativity in relapsed diffuse large B cell lymphoma correlated with more aggressive disease course. Indian J Hematol Blood Transfus. 2014; 30(4):269-74.
8.	Andjelic B, Todorovic M, Antic D, Bila J, Djurasinovic V, Mihaljevic B. Follicular lymphoma patients with a high flipi score and high tumor burden: a risk stratification model. Vojnosanit Pregl. 2015;72(1):26-32.

Да ли ментор испуњава услове?

ДА

НЕ

Биографија коментора:

Доц др Лана Нежић (предложени коментор)

### OBRAZOVANJE / STRUČNA ZVANJA

2013.-sad

**Interna medicina, specijalizacija / status - specijalizant**

Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Banja Luka, B&H  
Klinički centar Srbije, Beograd, Srbija

2009.-2010.

**Stipendija za poslijediplomsko stručno i naučno obrazovanje**

**Klinička farmakologija, terapijski monitoring i sigurnost lijekova / Postdoktorant**

Institut za kliničku farmakologiju i toksikologiju  
Univerzitetska bolnica Basel, Švajcarska  
Program Vlade Švajcarske za studente CEE (20 mjeseci)

2009.

**Klinička farmakologija / specijalista**

Specijalistički ispit iz Kliničke farmakologije

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

2006.–2009.

**Klinička farmakologija, specijalistički staž**

Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Banja Luka, B&H

2002.–2003.

**Stipendija za poslijediplomsko stručno i naučno obrazovanje**

**Klinička farmakologija i klinička ispitivanja / Istraživač**

Odjel Kliničke farmakologije, Klinika za internu medicinu

*Vienna General Hospital (AKH), Beč, Austrija*

Program Austrijske agencije za međunarodnu razmjenu (7 mjeseci)

**1993.-2000.**

**Doktor medicine**

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

*(Prosječna ocjena 9.0/od maksimalno 10)*

**OBRAZOVANJE / AKADEMSKA ZVANJA**

**2013.**

**Doktorska disertacija / Doktor medicinskih nauka**

**2011.-2012.**

Eksperimentalna istraživanja u oblasti farmakologije statina u akutnoj inflamaciji i uticaja na biologiju ćelije (apoptozu)

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

**2006.**

**Magistarski rad / Magistar medicinskih nauka**

Eksperimentalna istraživanja u oblasti farmakologije statina u akutnoj inflamaciji, uticaja na citokine i multiorganska oštećenja

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

**2004.-2005.**

Studijski boravak i istraživački projekat iz Farmakologije i imunologije

Institut za toksikologiju i farmakologiju

Vojnomedicinska akademija, Beograd, Srbija

**2002.-2004.**

**Postdiplomski studij „Biomedicinska istraživanja“**

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

*(Prosječna ocjena 9.6/od maksimalno 10)*

**PROFESIONALNO ISKUSTVO**

**2017.-sad**

**Etički komitet, predsjednica**

Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

2016.-sad	<b>Prodekan za međunarodnu saradnju</b> Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H
2016.-sad	<b>Klinički farmakolog u sponzorisanoj kliničkoj studiji faze II</b> <i>„Otvorena, nerandomizovana studija faze II ispitivanja efikasnosti i sigurnosti PQR309 kod pacijenata sa relapsno-refraktornim limfomom“</i> Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Banja Luka, B&H
2013.-sad	<b>Docent na Katedri za farmakologiju, toksikologiju i kliničku farmakologiju</b> Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H
2011.-sad	<b>Saradnik u provođenju kliničkih ispitivanja</b> <b>Ugovorno istraživačka organizacija Comac Medical Ltd.</b> Oblasti: odabir centara za sponzorisana klinička ispitivanja, projekti kvaliteta života, monitoring kliničkih ispitivanja i sigurnost lijekova
2011.-2016.	<b>Konsultant u oblasti farmakoterapije</b> Univerzitetski klinički centar Republike Srpske, Banja Luka, B&H
2009.-2013.	<b>Član upravnog odbora Zavod za transfuzijsku medicinu RS</b>
2006.-sad	<b>Komisija za klinička ispitivanja, član</b> Agencija za lijekove i medicinska sredstva B&H
2001.-2004.	<b>Farmakoepidemiologija lijekova u Republici Srpskoj, istraživač</b>
2001.	<b>Obuka ATC/DDD metodologija (SZO) u farmakoepidemiologiji</b> Studijski boravak u centru SZO, Oslo, Norveška
2000.-2013.	<b>Asistent i viši asistent na Katedri za farmakologiju, toksikologiju i kliničku farmakologiju</b> Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

**NAUČNI PROJEKTI:**

- I. 2017.-sad **Terapijski potencijal novih kardioprotektivnih lijekova–EUCARDIOPROTECTION, COST CA16225** (Horizon2020)
- II. 2016.-sad **Evropska istraživačka mreža u oblasti nestašice lijekova, COST CA15105** (Horizon2020)
- III. 2013.-2016. **“Propisivanje potencijalno neodgovarajućih lijekova osobama starije životne dobi u gerontološkim centrima”**  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H
- 2010.-2013. **“Ispitivanje uticaja statina na apoptozu u akutnoj inflamaciji”**  
Projekat: Ministarstva nauke i tehnologije, Vlada RS
- 2009.-2010. **“Ispitivanje različitih protokola u terapijskom monitoringu aminoglikozida u sepsi”**  
  
**“Farmakogenetska studija “Basel koktel” lijekova u fenotipizaciji najčešćih citochroma kod zdravih ispitanika”**  
Univerzitetska bolnica Basel, Švajcarska
- 2001.-2004. **“Racionalno propisivanje lijekova djeci u primarnoj zdravstvenoj zaštiti”** Projekat: UNICEF B&H
- 2001.-2003. **“Sigurna primjena lijekova u trudnoći”**  
Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H
- 2000.-2003. **“Uticaj donacija lijekova na propisivačku praksu u bolničkim uslovima”** Medicinski fakultet, Univerzitet u Banjoj Luci, Banja Luka, B&H

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница
1.	<b>Nezic L</b> , Derungs A, Bruggisser M, Tschudin-Sutter S, Krähenbühl S, Haschke M. Therapeutic drug monitoring of once daily aminoglycoside dosing: comparison of two methods and investigation of the optimal blood sampling strategy. Eur J Clin Pharmacol. 2014;70:829-37.
2.	<b>Nezic L</b> , Raetz-Bravo A, Bruggisser M, Kraehenbuel S. [Diclofenac-induzierte Leberschaeden] German. Liver Injury induced by Diclophenac. Praxis 2012;101(6)371-9.
3.	<b>Nezic L</b> , Škrbić R, Dobrić S, Stojiljković M, Milovanović ZA, Jačević V, Stoislavljević Šatara S, Stojaković N. Simvastatin and indomethacin have similar anti-inflammatory activity in a rat model of acute local inflammation. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2009; 104:185-191.
4.	<b>Nezic L</b> , Škrbić R, Dobrić S, Stojiljković M, Milovanović ZA, Stoislavljević Šatara S, Stojaković N. Effect of simvastatin on proinflammatory cytokines production in rats during lipopolysaccharide-induced inflammation. Gen Physiol Biophys 2009, Spec No: 119-26.
5.	Donzelli M, Derungs A, Serratore MG, Noppen C, <b>Nezic L</b> , Krähenbühl S et al. The Basel coctail for simultaneous phenotyping of humane cytochrome P450 isophorms in plasma, saliva and dried blood spots. Clin Pharmacokinet 2014; 53:271-82.

Да ли ментор испуњава услове?

ДА

НЕ

#### IV ОЦЛЕНА ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ

##### IV.1 Формулација назива тезе (наслова)

Значај експресије ABC протеина, сурвивина и Bcl-2 код дифузног В крупноћелијског не-Хочкин лимфома у настанку резистенције на хемиотерапију

Наслов тезе је подобан?

ДА

НЕ

##### IV.2 Предмет истраживања

Предмет истраживања је дифузни Б крупноћелијски не-Хочкински лимфом који има веома хетерогену природу, са веома великим учесталошћу појаве релапса оболења. Релапс оболења се повезује са развојем резистенције малигних ћелија према примјењеним хемиотерапијским лековима. Резистенција подразумјева развој метаболичког пута или експресију протеина који

онемогућавају улазак лијека у ћелију, или дијеловање лијека на малигну ћелију. Данас су најзначајнији предмет истраживања ABC касетни протеини, који се повезују са вишеструком резистенцијом на примјењене хемиотерапијске лијекове код различитих тумора. У посљедње вријеме се све више истражује могућност постојање резистенције на хемиотерапију код пацијената са лимфомом, чиме се настоји објаснити разлика у терапијском исходу пацијента који су по својим прогностичким факторима уједначени. Истраживање ће се базирати на процјени утицаја ABC касетних протеина, сурвивина и Bcl-2, на појаву резистенције на хемиотерапију код пацијената са дифузним Б крупноћелијским не-Хочкинским лимфомом. Такође, истражиће се и могућност да се утврди да ли повећана, иницијална (прије почетка лијечења), експресија ABC касетних протеина, сурвивина и Bcl-2, може указати на групу пацијената којим је потребан другачији, агресивнији начин лијечења од самог почетка.

**Предмет истраживања је подобан?**

**ДА**

**НЕ**

#### **IV.3 Најновија истраживања познавања предмета дисертације на основу изабране литературе са списком литературе**

Из доступне литературе издвојила бих следеће радове:

1. Hua Chuan Zheng. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. *Oncotarget* 2017;8: 59950-64.
2. Greaves W, Xiao L, Sanchez-Espiridon B, Kunkalla K, Dave KS, Liang CS, et al. Detection of ABCC1 expression in classical Hodgkin lymphoma is associated with increased risk of treatment failure using standard chemotherapy protocols. *Hematol Oncol*. 2012;5:47.
3. Miyashita T, Reed JC. Bcl-2 oncprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemia cell line. *Blood* 1993; 81:151-7.
4. Stacy AE, Jansson PJ, Richardson DR. Molecular Pharmacology of ABCG2 and Its Role in chemoristance. *Molec Pharmacol* 2013; 84:655-69.
5. Xia CQ, Smith P. Drugs efflux transporters and multidrug resistance in acute leukemia: therapeutic impact and novel approaches to mediation. *Molec Pharmacol* 2012; 82:1008-21.
6. Hu J, Zhang X, Wang F, Wang X, Yang K, Xu M et al. Effect of certinib (LDK378) on enhancement of chemotherapeutic agents in ABCB1 and ABCG2 overexpressing cells in vitro and in vivo. *Oncotarget* 2015; 6:44643-59. doi: 10.18632/oncotarget.5989.
7. Garg H, Suri P, Gupta JC, Talwar GP, Dubey S. Survivin: a unique target for tumor therapy. *Cancer Cell International*. 2016;16:49. doi:10.1186/s12935-016-0326-1.
8. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: A molecular biomarker in cancer. *The Indian Journal of Medical Research*. 2015;141(4):389-397. doi:10.4103/0971-5916.159250.

9. Liu D, Wu N, Sun H, Dong M, Guo T, Chi P, et al. ABCG2 and NCF4 polymorphisms are associated with clinical outcomes in diffuse large B-cell lymphoma patients treated with R-CHOP. *Oncotarget* 2017; 8:58292-303.

*Greaves* и сарадници су истраживали значај експресије 5 ABC протеина: ABCB1, ABCC1, ABCC2, ABCC3 i ABCG2, код класичног Хочкин лимфома, и утврдили значајан ниво експресије ABCC1 и ABCG2 код класичног Хочкин лимфома [24]. Детекција ABCC1 експресије је у овом истраживању била значајно повезана са повећаним ризиком за прогресију болести, резистенцију на примјењену терапију или смрт код класичног Хочкин лимфома. Сличне резултате су током истраживања добили и *Steidl* и сарадници [31], због чега је као закључак овог истраживања наведено да се експресија ABCC1 може успјешно користити као индикатор лошег одговора на терапију код класичног Хочкин лимфома, који су лијечени стандардним хемиотерапијским протоколима [29]. Значај експресије ABC мембранских протеина у дифузном Б крупноћелијском не Хочкинском лимфому (DLBCL), у прогнози болести и терапијском исходу су недостатне.

Истраживање *Liu* и сарадника је укључивало 337 пацијента обольелих од дифузног Б крупноћелијског нон Ходгкин лимфома који су третирани стандардним имунохемиотерапијским протоколом R-CHOP (ритуксимаб, циклофосфамид, адриамицин, винクリстин и преднизон), уз анализу полиморфизма за 6 гена од којих су се два односила на ABCC2 и ABCG2. Утврдили су да полиморфизам за ABCG2 има значајну улогу као прогностички фактор код DLBCL, односно повезану су са лошијим преживљењем без прогресије болести и преживљењем без догађаја.

Bcl-2 протеин је антиапоптотски протеин и његова повећана експресија штити ћелије од процеса програмиране ћелијске смрти. Повећана експресија Bcl 2 се сматра врло поузданим маркером хемотерапијске резистенције [44-47].

Сурвивин, као интрацелуларни молекул који припада фамилији инхибитора апоптозе, инхибише каспазу и блокирају ћелијску смрт, показује значају експресију код многобројних тумора и повезан са лошијим исходом. Недавно објављена истраживања су показала да се полиморфизам гена за сурвивин може користи као важан начин у одређивању прогнозе болести и терапијског исхода [48,49]. Разлика у експресији сурвивина у ћелијама тумора у поређењу са нормалним ткивима, данас га чини веома битним „target“ или циљаним мјестом дјеловања за различите антитуморске лијекове [50]. Повећана експресија сурвивна се доводи у корелацију и дјелимично објашњава механизам резистенције према хемотерапији и то различитим механизмима као што су дисрегулација

апоптозе, стечена измјена осјетљивости на антитуморске лијекове и стимулација преживљавања туморских ћелија. Посљедњи резултати су показали да је управо интензивна експресија сурвивина у корелацији са лошим одговором на примјењену терапију код лимфома [49]. Резистенција на апоптозу је један од важних механизама којим туморске ћелије изbjегавају идентификацију од стране имунолошких ћелија, што додатно омогућава преживљавање малигне ћелије изbjегавањем имунолошке контроле.

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiela J, Vardiman JW. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues. IARC: Lyon 2008.
2. Sant M; Allemani C; Tereenu C et al. Incidence of hematologic malignancies in Europa by morphologic subtyp results of the HAEMACARE project. Blood 2010; 116:3724-3734.
3. Tilly H, Gomes da Silva M, Vitolo U, Jack A, Meignan M, Lopez-Guillermo A et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. Annals of Oncology 2015; 26:116-125.
4. Jaffe ES. The 2008 WHO clasification of lymphomas: implicatio for clinical practice and translational research. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2009:523-31.
5. Szekely E, Hagberg O, Arnljots K, Jerkeman M. Improvment in survival of diffuse large B-cell lymphoma in relation to age, gender, International Prognostic Index and extranodal presentation: a population based Swedish Lymphoma Registry study. Leuk Lymphoma 2014. 55:1838-1843.
6. Testoni M, Zucca E, Young KH, Bertoni F. Genetic lesions in diffuse large B-cell lymphomas. Ann Oncol 2015; 26:1069-80.
7. Morton LM, Slager SL, Cerhan JR, Wang SS, Vajdic CM, Skibola CF et al. Etiologic heterogeneity among non-Hodgkin lymphoma subtypes: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project. J Natl Cancer Inst Monogr 2014; 48:130-44. doi: 10.1093/jncimonographs/lgu013.
8. Sant M, Minicozzi P, Mounier M, Anderson LA, Brenner H, Holleczek B et al. Survival for haematological malignancies in Europe between 1997 and 2008 by region and age: results of EUROCARE-5, a population-based study. Lancet Oncol 2014;15:931-42. doi: 10.1016/S1470-2045(14)70282-7.
9. Melchardt T, Troppan K, Weiss L, Hufnagl C, Neureiter D, Tränkenschuh W et al. A modified scoring of the NCCN-IPI is more accurate in the elderly and is improved by albumin and  $\beta$ 2 -microglobulin. Br J Haematol 2015; 168:239-45. doi: 10.1111/bjh.13116.
10. De Yong D, Rosenwald A, Chhanabhai M, Gaulard P, Klapper W, Lee A rt al. Immunohistochemical prognostic markers in diffuse large B-cell lymphoma:validation of

tissue microarray as prerequisite for broad clinical applications-A study from Luneburg Lymphoma Biomarker Consortium. *J Clin Oncol.* 2007; 25:805-12.

11. Biasoli I, Morais JC, Shelia A, Milito CB, Romano S, Land M et al. CD10 and Bcl-2 expression combined with the International Prognostic index can identify subgroups of patients with diffuse large-cell lymphoma with very good or very poor prognoses. *Histopathology.* 2005; 46: 328-33.
12. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016. 127:2375-90.
13. Young RM, Shaffer AL 3rd, Phelan JD, Staudt LM. B-cell receptor signaling in diffuse large B-cell lymphoma . *Semin Hematol.* 2015; 52:77-85.
14. Pasqualucci L. The genetic basis of diffuse B-cell lymphoma. *Cur Open Hematol* 2013; 20:336-44.
15. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. Diffuse large B-cell lymphoma treatment approaches in the molecular era. *Nar Rev Clin Oncol* 2014;11:12-23.
16. Shafer AL III, Young RM, Staudt LM. Pathogenesis of human B cell lymphomas. *Annu Rev Immunol.*2012; 30:565-610.
17. Bai M, Skyrlas A, Agnantis NJ, Kamina S, Tsanou E, Grep C et al. Diffuse large B-cell lymphomas with germinal center B-cell-like differentiation immunophenotypic profile are associated with high apoptotic index, high expression of the proapoptotic proteins bax, bak and bid and low expression of the antiapoptotic protein bcl-xL. *Mod Pathol.* 2004;17:847-56.
18. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G et al. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood* 2004; 103:275-82;  
doi: <https://doi.org/10.1182/blood-2003-05-1545>
19. Miller TP, Leblanc M, Spier C et al. CHOP alone compared to CHOP plus radiotherapy for early stage aggressive non-Hodkin's lymphomas: Update of the South-west Oncology Group (SWOG) randomized trial. *Blood* 2001;98:3024-30.
20. Horning SJ, Weller E, Kim K et al. Chemotherapy with or without radiotherapy in lilited-stage diffuse aggressive non Hodgkin's lymphoma: Easteren Cooperative Oncology Group study 1484. *J Clin Oncol* 2004; 22:3023-8.
21. Bonnet C, Filler G, Mounier N et al. CHOP alone compared with CHOP plus radiotherapy for localized aggressive lymphoma in elderly patients: A study by the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *J Clin Oncol* 2007; 25:356-63.
22. Fisher RI, Gaynor ER, Dahlberg S, Oken MM, Grogan TM, Mize EM et al. Comparison

of a standard regimen (CHOP) with three intensive chemotherapy regimens for advanced non Hodgkin's lymphoma. N Engl J Med.1993; 328:1002-6.

23. Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R et al. CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large B-cell lymphoma. N Engl J Med 2002; 346:235-42.
24. Greaves W, Xiao L, Sanchez-Espiridon B, Kunkalla K, Dave KS, Liang CS, et al. Detection of ABCC1 expression in classical Hodgkin lymphoma is associated with increased risk of treatment failure using standard chemotherapy protocols. Hematol Oncol. 2012;5:47.
25. Pfreundschuh M, Schubert J, Ziepert M, Schmits R, Mohren M, Lenfelder E et al. Six versus eight cycles of weekly CHOP-14 with or without rituximab in elderly patients with aggressive CD20+B-cell lymphomas: a randomised controlled trial (RICOVER-60). Lancet Oncol 2008; 9:105-16.
26. Pfreundschuh M, Trumper L, Osterborg A, Pottengell R, Trneny M, Imrie K et al. CHOP like chemotherapy plus rituximab versus CHOP-like chemotherapy alone in young patients with good-prognosis diffuse large-B-cell lymphoma: a randomised controlled trial by The MabThera International Trial (MinT) Group. Lancet Oncol 2006; 7: 379-91.
27. Jaffe SE, Pittaluga S. Aggressive B-Cell Lymphomas: A Review of New and Old Entities in the WHO Classification. Hematology Am Soc Hematol Educ Program. 2011; 2011:506-14.
28. Roschewski M, Staudt LM, Wilson WH. . Diffuse large B-cell lymphoma-treatment approaches in the molecular era. Nat Rev Clin Oncol 2014; 11: 12–23.
29. Bachy E, Salles G.. Treatment approach to newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma. Semin Hematol 2015; 52: 107–118.
30. Amin AD, Peters TL, Li L, Rajan SS, Choudhari R, Puvvada SD et al. Diffuse large B-cell lymphoma: can genomics improve treatment options for a curable cancer? *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies*. 2017; 3:a001719. doi:10.1101/mcs.a001719.
31. Steidl C, Telenius A, Shah SP, Farinha P, Barclay L, Boyle M et al. Genome-wide copy number analysis of Hodgkin Reed-Sternberg cells identifies recurrent imbalances with correlations to treatment outcome. Blood 2010 116:418-427
32. Coiffier B, Thibelmont C, Van Den Neste E, Lepeu G, Plantier I, Cataigne S et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial, the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte. Blood 2010; 116:2040-5.
33. Thieblemont C, Gisselbrecht C: Second-line treatment paradigms for diffuse large B-cell lymphomas. Current oncology reports 2009; 11:386-93.
34. Kevalramani T, Zelentz AD, Nimer SD et al. Rituximab and ICE as second-line therapy

- before autologous stem cell transplataion for relapsed or primary refractory diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* 2004;103:3684-8.
35. Holohan C, Van Schaeybroeck S, Longley DB, Johnston PG: Cancer drug resistance: an envolving paradigm. *Nat Rev Cancer* 2013; 13:714-26.
  36. Housman G, Byler S, Heerboth S, Lapinska K, Longacre M, Snyder N et al. Drug Resistance in Cancer: An Overview. *Cancers (Basel)* 2014; 6: 1769–92.
  37. Cole S. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) a „Multitasking“ ATP-binding cassette (ABC) transporter. *The J Bio Chemistri* 2014; 289:30880-8.
  38. Thiebaut F, Tsuruo T, Hamada H, Gottesman MM, Pastan I, Willingham MC. Cellular localization of the multidrug-resistance gene product P-glycoprotein in normal human tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1987. 84:7735-8.
  39. Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance. *Pharmacogenomics* 2008; 9:105-27.
  40. Boumendjel A, Boutonnat J, Robert J. ABC transporters and multidrug resistance. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, 2009.
  41. Kerr ID, Haider AJ, Gelissen IC. The ABCG family of membrana-associated transporters:you don't have be big to be mighty. *British J Pharmacol*,2011; 164:1767-79.
  42. Shukla S, Chen ZS, Ambudkar SV. Tyrosin kinasa inhibitors as modulators of ABC transporter-mediated drug resistance. *Drug Resistance Updates* 2012; 15:70-80.
  43. Stacy AE, Jansson PJ, Richardson DR. Molecular Pharmacology of ABCG2 and Its Role in chemoristance. *Molec Pharmacol* 2013; 84:655-69.
  44. Wei MC. Bcl-2 related genes in lymphoid neoplasia. *Int J Hematolo*2004; 80: 205-9.
  45. Hockenberry D, Nunez G, Milliman C, Schreiber RD, Korsmeyer SJ. Bcl-2 is an inner mitochondrial membrane protein that blocks programmed cell death. *Nature* 1990; 348:334-6.
  46. Miyashita T, Reed JC. Bcl-2 oncoprotein blocks chemotherapy-induced apoptosis in a human leukemia cell line. *Blood* 1993; 81:151-7.
  47. Ranger AM, Zha J, Harad H. Bad deficient mice develop diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100: 9324-9.
  48. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: A molecular biomarker in cancer. *The Indian Journal of Medical Research*. 2015;141:389-397. doi:10.4103/0971-5916.159250.
  49. Hua Chuan Zheng. The molecular mechanisms of chemoresistance in cancers. *Oncotarget* 2017;8: 59950-64.
  50. Jaiswal PK, Goel A, Mittal RD. Survivin: A molecular biomarker in cancer. *The Indian*

*Journal of Medical Research.* 2015;141(4):389-397. doi:10.4103/0971-5916.159250.

51. Garg H, Suri P, Gupta JC, Talwar GP, Dubey S. Survivin: a unique target for tumor therapy. *Cancer Cell International.* 2016;16:49. doi:10.1186/s12935-016-0326-1.
52. Oken M, Creech R, Tormey D, et al. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol.* 1982;5:649-655.
53. Jaeger U, Trneny M, Melzer H, et al. Rituximab maintenance for patients with aggressive B-cell lymphoma in first remission: results of the randomized NHL13 trial. *Haematologica.* 2015;100(7):955-963. doi:10.3324/haematol.2015.125344.
54. The Human Protein Atlas. [home page on the Internet]: Knut & Alice Wallenberg foundation. Available from <http://www.proteinatlas.org>
55. Tilly H, Gomes de Silva M, Vitolo U, Jack A, Meignan M, Lopez-Guillermo A et al. Diffuse Large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *AnnOncol* 2015; 26:116-25.

Избор литературе је одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.4 Циљеви истраживања

Циљеви истраживања:

1. Испитати интензитет експресије мембранских протеина-(ATP- касетних протеина, *efflux* пумпе) потенцијално одговорних за резистенцију према хемиотерапији и то: Р-гликопротеина (Pg или ABCB1), ABCC1 и ABCG2- у дифузном В крупноћелијском не-Хочкин лимфому (*diffuse large B cell lymphoma-DLBCL*) код релапс/резистентне болести у односу на иницијални ниво експресије и болести без релапса.
2. Испитати корелацију експресије Pg, ABCC1 и ABCG2 протеина и интрацелуларних антиапоптотских протеина сурвивина и Bcl-2 и објаснити молекуларни механизам резистенције на хемиотерапију код релапс/резистентног DLBCL у односу на иницијални ниво експресије и болести без релапса.
3. Утврдити значај експресије потенцијалних маркера резистенције на хемиотерапију (Pg, ABCC1 и ABCG2 протеина, сурвивина, Bcl-2) код релапс/резистентне болести у односу на имнохистохемијску подјелу DLBCL: лимфом порјекла герминативног центра (*germinal center B cell-GCB*) и лимфом активираних В ћелија (*activated B-cell- ABC*).
4. Испитати корелацију експресије потенцијалних маркера резистенције на хемиотерапију (Pg, ABCC1 и ABCG2 протеина, сурвивина и Bcl-2) са нодалним и

екстранодалним поријектом лимфома, стадијумом болести, полом, животном доби и прогностичком оцјеном.

Циљеви истраживања су одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.5 Хипотезе истраживања: главна и помоћне хипотезе

##### 1. Нулта хипотеза:

Повећана експресија Pg-гликопротеина (ABCB1), ABCC1 и ABCG2-ATP- касетних протеина, сурвивина и Bcl-2 нема прогностички значај у утврђивању вишеструке резистенције на примјену хемиотерапије (циклофосфамид, доксорубицин, винクリстин и преднисон +/- ритуксимаб) код пацијената са DLBCL.

##### 2. Радна хипотеза

Повећана експресија мембранских Pg-гликопротеина (ABCB1), ABCC1 и ABCG2-ATP- касетних протеина, сурвивина и Bcl-2, и њихове корелације су потенцијални биомаркери туморске резистенције на примјењену хемотерапију и могу објаснити молекуларни механизам настанка хеморезистенције.

Хипотезе истраживања су јасно дефинисане?

ДА

НЕ

#### IV.6 Очекивани резултати хипотезе

Очекиван резултат је да ће повећана експресија ABC касетних протеина бити повезана са већим ризиком за појаву прогресије болести, резистенције на хемиотерапијске лијекове и лошијим исходом пацијента оболелих од дифузног Б крупноћелијског не Хочкинског лимфома.

Очекивани резултати представљају значајан научни допринос? ДА НЕ

#### IV.7 План рада и временска динамика

**Фаза 1.** Сви пациенти који потенцијално испуњавају критеријуме укључивања у истраживање, а не испуњавају критеријуме за искучење упознаће се са сврхом истраживања и кориштењем података из медицинске историје, клиничких прегледа и резултата узорака добијених биопсијом иницијално у моменту дијагностиковања лимфома, и биће замољени да потпишу информсани пристанак.

**Фаза 2.** Прикупити податке из медицинске историје релевантне за истраживање (пол, старост, класификације, лијечење, датум дијагнозе, релапси, имунофенотипске групе).

**Фаза 3.** Ребиопсија лимфног чвора или другог ткива захваћеног лимфомом код пацијената код којих је утврђен релапс.

**Фаза 4.** Имунохистохемијска анализа ABCB1, ABCC1 и ABCG2 протеина, сурвивина, Bcl-2, биоптираног узорка у моменту *de novo* лимфома и биоптираног узорка код пацијента са релапсом.

**Фаза 5.** Анализа имунохистохемијских резултата биопсијом добијених узорака са маркерима: ABCB1, ABCC1 и ABCG2 протеина, сурвивина, Bcl-2 *de novo* и релапса, и корелација са подацима из медицинске историје.

План рада и временска динамика су одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.8 Метод и узорак истраживања

Истраживање ће обухватити временски период од 5 година (2014. до 2019.), у којем ће се испитивати пацијенти са *de novo* постављеном дијагнозом DLBCL и они пацијенти са релапсом болести, лијечени на Клиници за унутрашње болести, Одјељења за хематологију, Универзитетског клиничког центра Републике Српске. Истраживање је дизајнирано као кохортно, аналитичко истраживање.

Прва кохорта, ће бити формирана ретроспективно од 2014. године и праћена проспективно као петогодишње преживљавање (до краја 2019. године), а чиниће је пацијенти са дијагностикованим DCBLC стадијума I –IV, без релапса болести након примјене стандардног хемиотерапијског протокола CHOP са или без ритуксимаба, CHOP-*like* са или без ритуксимаба, CVP са или без ритуксимаба (n=30).

Друга кохорта ће бити формирана ретроспективно, почевши од 2014. године и наставити проспективно до формирања испитивање групе (n=30), а чиниће је пацијенти са раним или касним релапсом болести, или резистентом болести, након примјене минимално једног хемиотерапијског протокола.

##### 3.4.1 Критеријуми укључења за све пациенте

- Сви укључени пациенти –потврђена дијагноза болести, DLBCL *de novo*
- Старији од 18 година
- Доступан парафински узорак биоптата лимфног чвора или другог ткива захваћеног лимфомом, прије почетка терапије
- Медицинска документација, укључујући патохистолошки налаз са имунохистохемијском анализом неопходном за подјелу лимфома према Хансовом имунохистохемијском моделу
- Потписан информисани пристанак пацијента/законског заступника

### **3.4.2. Критеријуми укључења за све пацијенте са релапс/резистентом болести**

- Испуњени услови за релапс болести, и то рани релапс унутар 6 мјесеци од завршетка лијечења (или годину дана од дијагностиковања оболења), или касни релапс, уколико је прошло више од 6 мјесеци од последње примјене хемиотерапије; или примарно резистентни болесници, код којих првом линијом лијечења није постигнута ремисија
- Пристанак на ребиопсију или доступан парафински узорак биоптата лимфног чвора или другог ткива захваћеног лимфомом у релапсу болести
- Примењена барем једна линија хемиотерапијског протокола
- Медицинска документација, укључујући патохистолошки налаз са имунохистохемијском анализом неопходном за подјелу лимфома према Хансовом имунохистохемијском моделу
- Потписан информисани пристанак пацијента/законског заступника

### **3.4.3. Критеријуми искључења**

- Ако нема доступног парафинског узорка биоптата прије започињања терапије, односно код пацијената са релапс/резистентном болести недостатак биопсије лимфног чвора или другог ткива лимфома у том стадијуму
- Пацијенти са другим типовима лимфома и хематолошких малигнитета
- Пацијенти са нејасном дијагнозм лимфома или хематолошког малигнитета
- Некомплетна медицинска документација укључујући патохистолошки налаз са имунохистохемијском анализом неопходном за подјелу лимфома према Хансовом имунохистохемијском моделу
- Прогресија болести у централни нервни систем
- Пацијенти са реласом болести у терминалној фази који не могу поднијети ребиопсију
- Пацијенти који нису потписали информисани пристанак

### **3.4.4. Медицинска документација и клинички преглед испитаника**

Увидом у медицинску историју болести ће се прикупити следећи подаци:

- демографске карактеристике (пол, доб)
- клинички стадијум болести, опште стање пацијента оцењено према *The Eastern Cooperative Oncology Group* (ECOG) скали, екстранодална или нодална локализација болести, IPI-интернационални прогностички индекс, ревидирани интернационални IPI, хемиотерапијски протоколи који су примењени у првој линији терапије. Клинички стадијум болести ће бити одређен према *Ann Arbor* класификацији, са или без В симптома болести. Увидом у одлуке хематолошког конзилијума, добиће се подаци о ECOG

перформанс статусу пацијента. За све пацијенте ће бити одређена прогноза према броју неповољних прогностичких фактора (ревидирани Интернационални прогностички индекс, R-IPI), на основу којих ће бити сврстани у групе ризика: низак (скор 0), средње висок (скор 1-2) и висок ризик (3-5). На основу података из медицинске историје болести анализираће се и примјењена хемиотерапија, која подразумјева примјену стандардних протокола са антрациклинима (CHOP, *ciklofosfamid*, *doksorubicin*, *vinchristin*, *prednizolon*) или CHOP *like* (CEOP/IMVP, CHOEP, iCHOP, ESHAP, CNOP, MACOP-B, VACOP-B, and ProMaceCytaBOM) са или без ритуксимабом, као и примјена неантрациклиничких протокола (COP, *ciklofosfamid*, *vinchristin*, *prednizolon*), или другачије комбинације полихемиотерапије. Пацијенти ће бити праћени до завршетка истраживања, које је планирано за крај 2019. године, изузев у случајевима да се утврди да је дошло до смртног исхода.

- одговор на крају лијечења класификован као: комплетна ремисија, парцијална ремисија, стабилна болест, прогресија болести, али и евидентирање постојања резистентне болести, раног или касног релапса болести).

Метод и узорак су одговарајући?

ДА

НЕ

#### IV.9 Мјесто, лабораторија и опрема за експериментални рад

##### 1. Стандардна хистопатолошка и имунохистохемијска анализа биоптираних лимфних чворова и других ткива

За анализу ће се користити ткива биоптираних лимфних чворова новоткривених оболјелих или парафински калупи лимфних чворова и другог туморског ткива који се налазе у архиви Завода за патологију Универзитетског клиничког центра Републике Српске, прије почетка лијечења. Критеријуми за морфолошку анализу лимфног чвора ће бити базирани на препорукама CЗО, која је дефинисала морфолошке потипове DLBCL: анапластични, центробластни и имунобластни, као и ријетке морфолошке варијантне DLBCL. Хистолошке дијагнозе ће бити потврђене према критеријумима CЗО класификације лимфоидних неоплазми из 2016. године на хистолошким резовима обоженим хемотоксилин еозин (H&E), Giemsa и PAS методом. У имунохистохемијској анализи поред стандардних антитјела која се користе за дијагностиковање DLBCL, користиће се и антитјела CD10, BCL-6 и MUM-1. Позитиван резултат свих анализираних маркера сматраће се налаз специфичне експресије утврђен у >30% туморских ћелија (*cut off*). На основу анализе, узорци ће бити класификовани на основу коекспресије појединачних диференцијацијских маркера у 2 групе GCB и ABC групу према алгоритму Ханса и сарадника. Фенотипски узорци CD10+, BCL6+, MUM1-; CD10+, BCL6-, MUM1+ и CD10+, BCL6+, MUM1+ сматрају се GCB фенотипом, а фенотипски узорци CD10-, BCL6+, MUM1+ и CD10-, BCL6-, MUM1+ ABC фенотипом.

## **2. Имуноистохемијска анализа ABC мембранских протеина и интрацелуларних антиапоптотских маркера**

Планирано је да се код свих узорака ткива и лимфних чворова кориштених за стандардну хистопатолошку и имуноистохемијску анализу, анализира и експресија 3 ABC транспортера: Pg (ABCB1), ABCC1 и ABCG2, и сурвивина и Bcl-2, примјеном биохемијског приступа (имуноистохемијско бојење). Имуноистохемија се односи на процес локализације специфичних антигена у ткиву, помоћу циљно усмјерених антитјела, користећи основне принципе имунологије да се одређено антитјело веже и препозна само као циљни антиген. Имуноистохемија омогућава визуелизацију биомаркера и експресију појединих протеина у различитим ткивима. За имуноистохемију ће се користити исти узорци туморског ткива и лимфних чворова као и за патохистолошку дијагнозу. Ткивни пресјеци 3-4 μm ће бити подвргнути депарафинизацији (са ксилолом и рехидрацијом у силазним концентрацијама алкохола), демаскирању антигена и третирању одговарајућим примарним, као и осталим реагенсима у оквиру стандардних имуноистохемијских процедура, а у складу са упутствима произвођача антитјела (Thermo Fisher Scientific i Abcam). Укратко за демаскирање антигена ткивних пресјека (фиксирање формалином) захтјева се кухање у 10 mM натријевом-цитрату (Target Retrieval Solution, pH 6,0, ready-to-use, Code No. S 17000, DAKO Co, Denmark), у микроталасној пећи два пута по 10 минута, а затим хлађење на собној температури током 20 минута. Након тога пресјеци ће се испрати у раствору фосфатног пуфера (PBS) и инкубирати са примарним антитјелом за сваки антиген. Након испирања у PBS-у, ткивни пресјеци ће се инкубирати на полимерним системом за визуелизацију комплекса антиген-антитјело (UltraVision One-HRP, proizvođač Lab Vision). Након имунобојења усљедиће контрастно бојење ткивних пресјека хематоксилином, да би се могла приказати ткивна морфологија.

Обојени узорци ће бити анализирани свјетлосним микроскопом, у сврху одређивања експресије сваког испитаног антигена и дистрибуције у ћелијама. Интензитет експресије ће се оцењивати са колор-процентном скалом за експресију антигена (боје означавају различит ниво експресије протеина, а који се квантификују у процентима, укупна оцјена-*total score* може бити од 0-100% [54].

За пациенте за које се утврди да је дошло до релапса болести, према савременим препрукама је неопходно урадити ребиопсију ткива или лимфног чвора [55]. Након што пациенти потпишу информисани пристанак, урадиће се ребиопсија (лимфни чвор или други узорак ткива захваћен лимфомом). Након хируршког одстрањења лимфни чвор и/или други узорци ткива ће бити достављени на Завод за патологију у 10% пуферисаном формалину. Узети узорци ће бити макроскопски описани и фиксирани у 10% пеферисаном формалину током 18-24 сата. Стандардном процедуром ће бити доведени до калупљена у парафину, те сјечени на резове дебљине 4-5μm. Депарафисани хистолошки резови ће бити бојени стандардном методом хемотоксилин еозин (H&E). Овако спремљени препарати ће бити патохистолошки анализирани оптичким микроскопом на малом, средњем и великим увећању. Дијагноза ће бити постављена стандардном морфолошком и имуноистохемијском анализом биоптичког материјала према класификацији CZO из

2016. године. Планирано је да се код свих узорака ткива и лимфних чворова узетих током ребиопсије анализира експресија 3 ABC транспортера: ABCB1, ABCC1 и ABCG2, и сурвивина и BCL2, примјеном биохемијског приступа (имунохистохемијско бојење).

Услови за експериментали рад су одговарајући? ДА НЕ

#### IV.10 Методе обраде података

Сви резултати ће бити представљени нумерички, табеларно, графички и на сликама. За анализу добијених резултата користиће се статистички пакет *StatSoft Statistica za Windows 10*. Добијени резултати ће се анализирати непараметријским тестовима (*Kruskal-Wallis* и *Mann-Whitney*). Статистичка значајност ће бити одрђена са вриједности  $p<0,05$ .

Предложене методе су одговарајући? ДА НЕ

### V ЗАКЉУЧАК

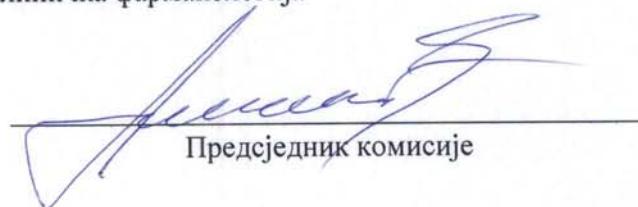
Кандидат је подобан	<u>ДА</u>	<u>НЕ</u>
Тема је подобна	<u>ДА</u>	<u>НЕ</u>

*Образложење (до 500 карактера):*

Приједлог теме докторске тезе мр сц. мед. Данијеле Мандић под називом „Значај експресије ABC протеина, сурвивина и Bcl-2 код дифузног В крупноћелијског не-Хочкин лимфома у настанку резистенције на хемиотерапију“ задовољава све критеријуме за пријаву докторске тезе. Чланови комисије упућују позитивну оцјену Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бања Луци и са великим задовољством предлажу да се ова позитивна оцјена прихвати и одобри тема, те покрене даљи поступак израде докторске тезе мр сц. мед Данијеле Мандић.

Датум: Април, 2018

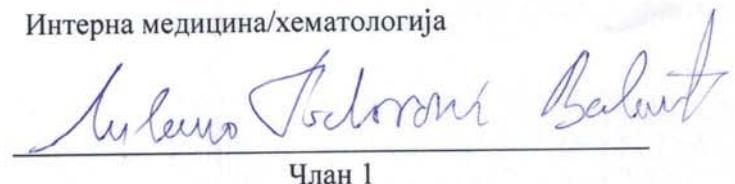
Проф др Ранко Шкрбић, редовни професор  
Ужа научна област: Фармакологија, токсикологија  
и клиничка фармакологија



\_\_\_\_\_  
Предсједник комисије

Проф др Милена Тодоровић-Балинт, ванредни професор

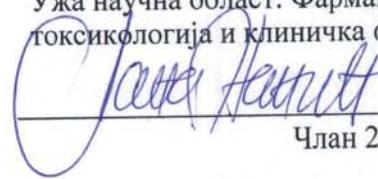
Ужа научна област:  
Интерна медицина/хематологија



\_\_\_\_\_  
Члан 1

Доц др Лана Нежић, доцента

Ужа научна област: Фармакологија,  
токсикологија и клиничка фармакологија



\_\_\_\_\_  
Члан 2