

NAU NOM VE U MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Nau nog ve a Medicinskog Fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 16.06.2014. godine, odre ena je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije kandidata dr Boško An eli pod nazivom: „*Prognosti ki zna aj angiogeneze i mikrosredine tumora na ishod le enja bolesnika sa Ho kinovim limfomom*“. Mentor za izradu doktorske disertacije je Prof.dr Biljana Mihaljevi , Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu.

Imenovana je Komisija u sastavu:

- | | |
|-----------------------------|---|
| 1. Prof.dr Gradimir Jankovi | Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu |
| 2. Doc. dr Milena Todorovi | Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu |
| 3. Prof.dr Miodrag Raji | Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu |

lanovi Komisije su detaljno prou ili priloženu disertaciju i jednoglasno podnose Nau nom ve u slede i

IZVEŠTAJ

A. Prikaz sadržaja disertacije

Doktorska disertacija dr Boško An eli „*Prognosti ki zna aj angiogeneze i mikrosredine tumora na ishod le enja bolesnika sa Ho kinovim limfomom*“, napisana je na 87 strana i sastoji se od devet poglavlja i priloga u vidu 23 tabele, 16 grafikona i 9 slika. Podeljena je na poglavlja: Uvod, Cilj rada, Metodologija istraživanja, Rezultati rada, Diskusija, Zaključak, Fotodokumentacija rezultata, Literatura i Skra enice. Disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, kao i biografiju kandidata. Citirano je 187 referenci iz doma e i strane

literature. Struktura i kompozicija rada u celini sadrže sve elemente i zadovoljavaju sve kriterijume doktorske disertacije.

UVOD – Ovo poglavlje sastoji se iz šest celina: a) O Ho kinovom limfomu; b) Histološke karakteristike Ho kinovog limfoma; c) Kliničke karakteristike Ho kinovog limfoma; d) Lečenje Ho kinovog limfoma; e) Prognostički faktori za Ho kinov limfom; f) Prognostički značaj angiogeneze i mikrosredine tumora. U delu uvoda „O Ho kinovom limfomu“ prikazan je istorijat Ho kinovog limfoma, njegova učestalost i dosadašnja saznanja o etiologiji ove bolesti. U sledećem odeljku Uvoda – „Histološke karakteristike Ho kinovog limfoma“ detaljno su opisane histološke karakteristike tumorskog tkiva kod ove bolesti. Odeljak „Kliničke karakteristike Ho kinovog limfoma“ detaljno prikazuje kliničke karakteristike ove bolesti. Sledeći odeljak „Lečenje Ho kinovog limfoma“ temeljno opisuje terapijski pristup kod obolelih od Ho kinovog limfoma, po ev od istorijskih protokola za lečenje pa do najsavremenijih pristupa u lečenju i na čemu se oni baziraju, što je potkrepljeno najsavremenijom literaturom. U odeljku „Prognostički faktori za Ho kinov limfom“ se opisuje značaj prognostičkih faktora u savremenoj medicini i posebno u oblasti Ho kinovog limfoma. U odeljku „Prognostički značaj angiogeneze i mikrosredine tumora“ su opisana i dosadašnja saznanja o mogućoj prognostičkoj ulozi angiogeneze i mikrosredine tumora na ishod lečenja bolesti.

CILJEVI ISTRAŽIVANJA – Prvi cilj je bio da se ispita da li je ekspresija VEGF, povećana gustina krvnih sudova, povišen procenat makrofaga ili T limfocita u tumoru, povezana sa lošim ishodom lečenja. Drugi cilj je bio da se ispita da li postoji udruženost nivoa angiogeneze i predominacije jedne vrste netumorskih ćelija u tumorskom tkivu. Treći cilj rada je bio da se u ovoj uporedna analiza kliničko-laboratorijskih parametara sa nivoom angiogeneze, procentom makrofaga i T limfocita u tumorskom tkivu, radi formiranja optimalnog inicijalnog prognostičkog modela.

METODOLOGIJA ISTRAŽIVANJA – Metodologija istraživanja opisana je u tri odeljka. U prvom odeljku „Izbor bolesnika i kliničko-laboratorijski podaci“ jasno je definisan uzorak ispitanika, period kada je postavljena inicijalna dijagnoza, potrebni kriterijumi da bi bolesnik bio uključen u ispitivanje, način lečenja, način procene odgovora, ispitivani parametri. Radi se o retrospektivnoj studiji na 84 bolesnika koji su dijagnostikovani na Klinici za hematologiju, Klinički Centar Srbije. U ispitivanoj grupi su bili bolesnici u svim kliničkim stadijumima.

Inicijalna terapija kojom su bolesnici bili le eni je bila ABVD (Adriablastin, Bleomicin, Vinblastin, Dakarbazin). Efekat terapije se procenjivao kao kompletna klini ka remisija (CR), parcijalna remisija (PR), izostanak odgovora (eng. *stable disease*, *SD*), ili progresija bolesti (eng. *progressive disease*, *PD*). Ukupno preživljavanje (eng. *overal survival*, *OS*) je odre ivano kao interval od po etka bolesti do poslednje kontrole pre završetka istraživanja ili kao interval od po etka bolesti do smrtnog ishoda. Period bez doga aja (eng. *event-free survival*, *EFS*). EFS se definiše kao interval izme u dijagnoze i progresije bolesti, relapsa ili smrti zbog limfoma, u zavisnosti od toga šta prvo nastupi. Od bioloških markera imunohistohemijskom analizom ispitivani su gustina krvnih sudova (CD34) u vidnom polju velikog uve anja, ekspresija VEGF, broj CD68 pozitivnih makrofaga u vidnom polju velikog uve anja i broj FOXP3 limfocita u vidnom polju velikog uve anja. Ispitivani klini ki parametri su obuhvatali: pol, starosno doba, Ann Arbor lini ki stadijum bolesti, da li bolesnik ima prisustvo ili odsustvo opštih simptoma bolesti (B simptomi), prisustvo *bulky* tumorske mase. Laboratorijski podaci koji su ispitivani su bili sedimentaciju eritrocita i vrednost laktat dehidrogenaze (*LDH*) u serumu. U svih bolesnika je utvr ivan Internacionalni Prognosti ki Skor.

U drugom poglavlju “Imunohistohemijska analiza” detaljno je opisan na in ispitivanja bioloških markera obuhva enih ovim ispitivanjem.

Statisti ke medode su detaljno i jasno navedene u odeljku “Statisti ka obrada”.

REZULTATI – Rezultati su detaljno, pregledno i sistemati no prikazani na 27 strana u 7 potpoglavlja, kroz 12 tabela i 23 grafikona. Najpre su prikazane demografske karakteristike bolesnika, histološke, klini ke i biohemijske karakteristike bolesti. Potom je prikazano ispitivanje uticaja angiogeneze na preživljavanje bolesnika, pa uticaja mikrosredine tumora na preživljavanje bolesnika, a nakon toga ispitivanje njihove udruženosti. U slede em potpoglavlju je prikazana analiza preživljavanja u zavisnosti od klini kih i laboratorijskih karakteristika. Potom je prikazana uporedna analiza klini ko-laboratorijskih i bioloških parametara. U poslednjem potpoglavlju prikazan je prognosti ki model formiran na osnovu prethodno dobijenih rezultata.

DISKUSIJA – U ovom poglavlju je prikazano pore enje rezultata dobijenih u ovom istraživanju sa rezultatima sli nih istraživanja objavljenih u vode im me unarodnim nau nim asopisima. Rezultati dobijeni u ovom istraživanju su u saglasnosti sa ve inom prethodnih

studija, ali i značajno proširuju dosadašnja saznanja o prognosti kom značaj biomarkera, kako pojedinačno tako i u kombinaciji sa kliničko-laboratorijskim parametrima.

ZAKLJUČAK – Na osnovu analize rezultata istraživanja, kandidat je jasno naveo zaključke iz kojih se vidi da su ostvareni postavljeni ciljevi.

B. Kratak opis postignutih rezultata

Rezultati studije su pokazali da ispitivani parametri angiogeneze nemaju prognostički značaj kod bolesnika sa Hodgkinovim limfomom. Gustina krvnih sudova nema prognostički uticaj ni u univarijantnoj ni u multivarijantnoj analizi, dok ekspresija VEGF u tumorskom tkivu Hodgkinovog limfoma ima prognostički značaj u univarijantnoj analizi, ali u multivarijantnoj analizi ovaj biomarker nije identifikovan kao nezavistan prognostički parametar. Potvrđen je prognostički značaj oba ispitivana biomarkera mikrosredine tumora. Veliki broj CD68 pozitivnih makrofaga u tumorskom tkivu je nezavistan prognostički faktor za loše ukupno preživljavanje bolesnika sa Hodgkinovim limfomom, dok je nizak broj FOXP3 limfocita u tumorskom tkivu nezavistan prognostički faktor i za loše ukupno preživljavanje kao i za period bez događaja bolesnika sa novodijagnostikovanim Hodgkinovim limfomom. Ispitivanja da li postoji udružena nivoa angiogeneze i predominacije jedne vrste netumorskih ćelija u tumorskom tkivu pokazala su da je povišen broj CD68 makrofaga u tumorskom tkivu praćen povećanom gustinom krvnih sudova u tumorskom tkivu, kao i da je snižen broj FOXP3 limfocita udružen je sa povišenom ekspresijom VEGF. U ovom istraživanju potvrđen je nezavistan prognostički uticaj kliničkih parametara poput velike tumorske mase, kao i internacionalnog prognoznog skora. Rezultati ovog istraživanja pokazuju da se još bolji rezultati u smislu prognoze ishoda lečenja postižu uvrštavanjem kliničkih i bioloških parametara u kombinovani model, što je postignuto uvrštavanjem u kombinovani model parametara koji su identifikovani kao nezavisni prognostički faktori.

C. Uporedna analiza rezultata kandidata sa rezultatima iz literature

Rezultati kandidata su detaljno upoređeni sa podacima iz literature. Gustina krvnih sudova i ekspresija VEGF u tumorskom tkivu nisu identifikovani kao nezavisni prognostički faktori za preživljavanje bolesnika sa Ho kinovim limfomom što je u skladu sa literaturnim podacima (Koh i sar. 2014; Panico i sar. 2013; Passam i sar. 2009.). Veliki broj CD68+ i mali broj FOXP3 limfocita u tumorskom tkivu identifikovani su kao nezavistan prognostički faktori što je u saglasnosti sa brojnim savremenim ispitivanjima (Stiedl i sar. 2010; Kamper i sar. 2011; Yoon i sar. 2011; Alvaro i sar. 2005; Tzankov i sar. 2008; Greaves i sar. 2013). Utvrđena korelacija broja CD68+ makrofaga sa gustinom krvnih sudova u tumorskom tkivu je u saglasnosti sa nalazima Panico i saradnika iz 2013.godine. Nije utvrđena korelacija broja CD68+ makrofaga i ekspresije VEGF, što je u saglasnosti sa literaturom (Koh i sar. 2014).

D. Objavljeni radovi i saopštenja koji čine deo teze

Radovi:

1. Bosko Andjelic, Darko Antic, Ljubomir Jakovic, Milena Todorovic, Andrija Bogdanovic, Vladislava Djurasinovic, Jelena Bila, Biljana Mihaljevic. A Single Institution Experience on 314 Newly Diagnosed Advanced Hodgkin Lymphoma Patients: The Role of ABVD in Daily Practice. *European Journal of Haematology* 2014, May 3. doi: 10.1111/ejh.12364. [Epub ahead of print]. IF 2.548
2. Bosko Andjelic, Biljana Mihaljević, Ljubomir Jakovic. ABVD as the treatment option in advanced Hodgkin's lymphoma patients older than 45 years. *Pathology & Oncology research* 2012;18:675-680. IF 1.555

Saopštenja:

1. Bosko Andjelic, Maja Perunicic Jovanovic, Ljubomir Jakovic, Milena Todorovic, Darko Antic, Jelena Bila, Aleksandra Sretenovic, Vladislava Djurasinovic, Vojin Vukovic, Jelena Jelacic, Biljana Mihaljevic. Tumor associated macrophages and FOXP3 lymphocytes correlates with the outcome in Hodgkin lymphoma patients. 19th Congress

of the European Hematology Association, Milan, Italy, June 12-15, 2013. Haematologica 2014;99(Suppl 1): PB1772.

E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa disertacije)

Na osnovu analize priložene disertacije članovi Komisije smatraju da doktorska disertacija „*Prognostički značaj angiogeneze i mikrosredine tumora na ishoda lečenja bolesnika sa Hodgkinovim limfomom*“ kandidata dr Boška Anđelića u potpunosti ispunjava zakonom i Statutom Medicinskog fakulteta predviđene uslove u pogledu obima i naučnog značaja dobijenih rezultata.

Tema doktorske disertacije je aktuelna i ima i naučni i praktični značaj. Ova disertacija je urađena prema svim principima naučnog istraživanja, precizno su definisani ciljevi, naučni pristup je originalan, metodologija rada je savremena, rezultati su adekvatno prikazani i diskutovani. Rad je napisan stilski korektno, a upotreba termina i stranih reči i izraza je odgovarajuća.

Ovi nalazi su u skladu sa rezultatima prethodnih studija drugih autora publikovanih u vrhunskim međunarodnim časopisima, ali takođe predstavljaju i originalni naučni doprinos u oblasti hematologije, odnosno Hodgkinovog limfoma, jer potvrđuju prognostički značaj biomarkera u tumorskom tkivu. Rezultati ovog istraživanja ukazuju na potencijalno vrlo značajnu ulogu biomarkera mikrosredine tumora u kombinovanim prognostičkim modelima na osnovu kojih bi se mogao određivati terapijski pristup bolesnicima sa Hodgkinovim limfomom i time osnovu za dalja istraživanja u tom pravcu.

Stoga, na osnovu celokupne analize priloženog materijala, Komisija jednoglasno zaključuje da su, pored zakonskih, ispunjeni i svi ostali formalni uslovi i na osnovu toga predlaže Naučnom vešću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da usvoji pozitivnu ocenu i da odobri javnu odbranu doktorske disertacije „*Prognostički značaj angiogeneze i mikrosredine tumora na ishoda lečenja bolesnika sa Hodgkinovim limfomom*“ kandidata dr Boška Anđelića.

U Beogradu, 30.06.2014. godine

MENTOR

Prof dr Biljana Mihaljevi

LANOVI KOMISIJE

1. Prof.dr Gradimir Jankovi

2. Doc. dr Milena Todorovi

3. Prof.dr Miodrag Raji