

Оцена готове докторске тезе,
Доставља.-

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ МФ
ВОЈНОМЕДИЦИНСКЕ АКАДЕМИЈЕ

На 33. седници Наставно-научног већа ВМА, одржаној 29.10.2015. одређена је комисија за оцену готове докторске тезе ВС асист. мр сц. мед. Марике Љубенов из Института за трансфузиологију и хемобиологију, чија тема гласи:

„ОЦЕНА ЕФЕКТА АБО-ИНКОМПАТИБИЛНОСТИ И ПЕРИТРАНСПЛАНТАЦИЈСКИХ *IN VIVO* И *EX VIVO* ТРЕТМАНА НА ПРИХВАТАЊЕ АЛОКАЛЕМА И ПОЈАВУ КОМПЛИКАЦИЈА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИЈЕ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА ХЕМАТОПОЕЗЕ”

Комисија у саставу: ВС проф. др Бела Балинт, Институт за трансфузиологију и хемобиологију ВМА, Медицински факултет Универзитета одбране, ВС проф. др Драгана Стаматовић, Клиника за хематологију ВМА, Медицински факултет Универзитета одбране проф. др Милена Тодоровић-Балинт, Клиника за хематологију Клиничког центра Србије, ВС доц. др Оливера Тарабар, Клиника за хематологију ВМА, Медицински факултет Универзитета одбране, ВС доц. др Душан Вучетић, Институт за трансфузиологију и хемобиологију ВМА, Медицински факултет Универзитета одбране, проучила је детаљно приложени рад и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСKE ТЕЗЕ

Докторски рад ВС асист. мр сц. мед. Марике Љубенов написан је на 102 стране текста и подељен је на следећа поглавља: УВОД (27 страна), ХИПОТЕЗА И ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА (2 стране), МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ (8 страна), РЕЗУЛТАТИ (25 страна), ДИСКУСИЈА (25 страна), ЗАКЉУЧАК (2 стране) и ЛИТЕРАТУРА (9 страна). Резултати су документовани са 14 слика и 26 табела. У раду је цитирано 116 изворних литературних података.

2. ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У поглављу УВОД или ДОСАДАШЊА САЗНАЊА кандидат истиче да од првих покушаја трансплантација матичних ћелија (Мћ) хематопоезе из костне сржи, до увођења алтернативних извора Мћ, као што су периферна и умбиликална крв, изналажења процедура *ex vivo* процесирања и криоконзервације ћелија, односно имуномагнетне селекције – не само за потребе конвенционалних трансплантација, него и регенеративне медицине – било је потребно да прође око пола века. Данас се алогена трансплантација Мћ успешно примењује у лечењу бројних урођених и стечених, малигних и бенигних хематолошких, али и других обољења.

Указано је на то да неподударност даваоца/примаоца у крвно-групном систему АБО (АБО-инкомпатибилија) није контраиндикација за извођење трансплантације. Међутим, таква трансплантација захтева извођења специфичних поступака *ex vivo* обраде ћелијске суспензије (аспирата) и *in vivo* претретман (имуномодулација изменом плазме и медикаментима) примаоца. Учесталост АБО инкомпатибилије се очекује код око једне трећине од укупног броја трансплантација. Постоје три облика неподударности у систему АБО. Минор АБО-

инкомпатибилна је карактерисана присуством антитела у суспензији МТн усмерених против еритроцитних антигена примаоца. Мајор АБО-инкомпатибилна одликује присуство антитела у циркулацији примаоца која су усмерена против еритроцитних антигена даваоца. Мајор-минор (бидирекцијска) АБО-инкомпатибилна је истовремена комбинација претходна два облика.

Наведено је да упркос процедурама пре-трансплантацијске припреме, као што су: а) редукција волумена плазме са присутним алоантителима помоћу центрифугирања суспензије МТн и отклањања супернатантне плазме (минор АБО-неподударност); б) измена плазме код примаоца уз редукцију броја еритроцита у суспензији МТн (мајор АБО-неподударности) и ц) обе процедуре (бидирекцијска АБО-неподударност) – ризик од настанка пост-трансплантацијске хемолитичке реакције постоји у свим облицима АБО-неподударности. Осим тога, у случају мајор или бидирекцијске АБО-неподударности може бити одложено прихватање еритроидне лозе даваоца, са повећаним потребама за трансфузијама еритроцита након трансплантације. Осим тога, у појединим случајевима описиване су и "чисте" аплазије еритроцитне лозе (Pure Red Cell Aplasia – PRCA). Када је у питању динамика прихватања алогеног калема, утврђено је да мајор АБО-неподударност коинцидира са одложеним прихватањем еритроидне лозе. Међутим, слично нашим резултатима, ни други аутори нису потврдили да АБО-неподударност има утицаја на динамику прихватања алогеног калема, мерено бројем неутрофила и тромбоцита. Досадашња искуства такође указују на повећани ризик за настанак болести калем против домаћина (Graft-versus-Host-Disease – GvHD) у случају алогене трансплантације МТн уз АБО-неподударност. Међутим, сем појединачних извештаја утицај АБО-неподударности на резултате алогене ТМТн до сада није систематски документован.

Закључено је да је АБО-инкомпатибилна трансплантација МТн могућа и веома обећавајућа терапијска алтернатива за болеснике којима је лечење тим ћелијама индиковано и када не стоји на располагању АБО компатибилни далац. Увођење и/или усавршавање нових – ефикасних, сигурних – поступака редукције не само инкомпатибилних еритроцита, већ и отклањања алоантитела из циркулације болесника, а тиме и услова за боље прихватање транспланта и превенцију имунски посредованих компликација, намећу се као императив.

На основу законитости трансплантацијске имунологије, сопствених искустава везаних за прикупљање, *ex vivo* манипулисање и терапијску примену МТн – а полазећи од иностраних и домаћих литературних података – кандидат је поставио следећу **РАДНУ ХИПОТЕЗУ**: а) применом сопственог аферезног протокола за прикупљање МТн и редукцијом алоантитела анти-А/Б у циркулацији примаоца изменом плазме биће спречена појава непосредне хемолитичке реакције; б) процесирањем аспирираног костног сржи по оригиналној процедури и применом адекватне пост-трансплантацијске имunosупресије биће обезбеђено брзо и комплетно прихватање АБО-инкомпатибилних МТн по не спорној кинетици и у не мањем степену у поређењу са АБО-компатибилним МТн, уз ефикасну превенцију потенцијалних имунски посредованих компликација.

За проверу радне хипотезе дефинисани су следећи **ЦИЉЕВИ ИСТРАЖИВАЊА**: а) одређивање утицаја извора МТн на кинетику прихватања алокалема (динамику успостављања донор-специфичне хематопоезе); б) испитивање степена химеризма методом семиквантитативне хемофенотипизације у чврстој фази (техником крвних група са микрокулицама), уз одређивање цитогенетских маркера у циљу потврде прихватања алокалема; в) утврђивање учесталости и врсте имунски-посредованих компликација трансплантација (хемолитичка реакција, одложено прихватање алокалема, акутни и хронични GvHD, релапс болести); г) анализа међусобне повезаности испитиваних параметара и њихове корелације са клиничком сликом, током и преживљавањем болесника лечених трансплантацијом МТн.

У поглављу **МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ** кандидат је најпре јасно и детаљно представио дизајн истраживања које је обављено по типу комбиноване ретроспективно-проспективне клиничко-лабораторијске студије у којој је укупно испитивано 202 болесника, лечених различитим модалитетима алогене трансплантације МЋ. Истраживање је обухватило преклиничка испитивања ефикасности аферезног прикупљања, процесирања суспензије ћелија и извођење клиничке студије са претежно проспективном групом болесника (n = 62) којима су трансплантиране АБО-инкомпатибилне мајор, минор или мајор/минор АБО-инкомпатибилне МЋ. Контролну групу је чинила већим делом ретроспективна група болесника (n = 140) који су лечени трансплантацијом МЋ од донора исте крвне групе АБО.

Обухвешене су следеће болести: тешка апластична анемија (SAA), хронична мијелоидна леукемија (HML), акутна мијелоидне леукемије (AML), акутне лимфобластне леукемије (ALL), мијелодисплазни синдроми (MDS), мултипли мијеломи (MM), екстремедуларне AML или гранулоцитни саркома и лимфоми (Non-Hodgkinov лимфом – NHL; Hodgkinova болест – HD). Припремни (кондициони) режими су били прилагођени природи основне болести – при чему, у случају акутних и хроничних леукемија припремни режим је био комбинација busulphana и cyclophosphamida, код SAA комбинација cyclophosphamida и ATG, а код MM високе дозе melphalana или комбинација стандардног протокола "busulphan-cyclophosphamid 2", уз једнократну примену melphalana. У циљу медикаментозне превенције GvHD дата је тројна имуносупресивна терапија по тзв. стандардном Seattle протоколу.

МЋ прикупљене су од сродних (n=162) и несродних (n=40) давалаца (MUD). Када је извор МЋ била костна срж (n=77), узимање аспирана обављено је у хируршкој сали у општој анестезији даваоца из задњег и предњег гребена бедрене кости. Код већег броја трансплантација (n=125) извор МЋ је била периферна крв после петодневне мобилизације фактором раста гранулоцитопоезе (rHuG-CSF; doza = 5–12 µg/kg/dan). Превенција имунски-посредованих компликација хемотерапије обављена је применом филтрованих и озрачених (гама зраци; доза = 25 Gy / јединица) продуката од крви.

Успешност трансплантације процењена је на основу детерминисања показатеља и маркера код болесника после алогене трансплантације: а) хематолошког опоравка – квантификацијом параметара хемограма (анализа крвне слике са леукоцитарном формулом); б) медуларне и цитогенетске ремисије – праћењем промена у целуларности костне сржи и утврђивање цитогенетских маркера; в) имунохематолошког статуса/конверзије – квалитативна и семиквантитативна тестирања реципијент и донор специфичних еритроцитних антигена; г) клиничког тока/исхода – праћењем општег стања болесника и појаве компликација. Непосредни лабораторијски мониторинг хемограма, биохемизма и имунских маркера обављени су два сата по изведеној трансплантацији, а потом једном дневно у посттрансплантацијском периоду. Прихватање калема објективизирано је доступним, стандардним техникама – на основу параметара крвне слике (неутрофили $\geq 0,5 \times 10^9/L$ и тромбоцити $\geq 20 \times 10^9/L$ током три узастопна дана).

Током имунохематолошких испитивања узорци крви тестирани су у пре-трансплантацијском периоду (обрада болесника и даваоца) – испитивани су фенотипови система АБО, Rhesus, Kell, Kidd, P, MNS, Duffy i Lewis, као и индиректни и директни антиглобулински тест (IAT и DAT). Код мајор АБО-инкомпатибилности, испитиван је примаочев титар анти-А/Б коришћењем донорских еритроцита (ради доношења одлуке о извођењу измене плазме; жељени титар ≤ 16). У пери-трансплантацијском периоду праћени су DAT и IAT два сата и 24 сата после трансплантације. У пост-трансплантацијском периоду за време аплазије, болесницима су

припремани одговарајући компатибилни еритроцити. У овом периоду испитиван је титар (или нестанак) антитела у плазми примаоца.

Узорци крви узети су у епрувете од 3 mL са етилен-диамин-тетра-ацетатном киселином (EDTA; Venosafe, Terumo) за хемофенотипизацију (АБО и осталих система), затим испитивање IAT и DAT. За IAT и испитивање титра природно присутних и имунских антитела био коришћен серум (Venosafe, Terumo) у запремини од 9 mL. Коришћени тест еритроцити били су оптимизирани (3–5% ћелијска суспензија у 0,9% раствору NaCl) за рад помоћу крвнотипних картица (Ortho-Clinical Diagnostics, USA). Антихуман-глобулинско тестирање у овом истраживању дизајнирано је тако да се изводи применом картица са микрокуглицама (Ortho-Bio-Vue, USA) у раствору ниског јонског напона (BLISS), уз коришћење инкубатора и центрифуге Ortho-Bio-Vue Systema. Ове картице су фабрички припремљене тако да свака колона садржи антихумани глобулин реагенс за једно тестирање. Присуство ирегуларних (природних и имунских) антитела је испитивано различитим техникама, у течној фази (у епрувети), односно у чврстој фази помоћу специфичних картица Ortho-Bio-Vue Система. Њихово титрирање је примењено као семиквантитативан метод за одређивање концентрације антитела у узорку серума по раније описаној методи. Појава мешаног поља ("mix field") говорило је у прилог присуства више различитих популација еритроцита у испитиваном узорку крви, односно у циркулацији болесника. Феномен мешаног поља био је приказан микроскопским испитивањем у течној фази, а још јасније употребом картица за фенотипизирање.

СТАТИСТИЧКА АНАЛИЗА добијених података клиничких, хематолошких, биохемијских, цитолошка и имунохематолошка испитивања овог истраживања су изведена компјутерски, коришћењем одговарајућег статистичког софтверског програма (Origin i Statgraf). Испитиване групе болесника су упоређиване анализом Mann-Whitney-овим и Student-овим t-тестом, односно применом непараметријских тестова – ANOVA. Разлике су означаване као статистички значајне при вредности: $p \leq 0,05$.

Добијени **РЕЗУЛТАТИ** показују да су праћени параметри о даваоцима, примаоцима и изведеним процедурама били слични код оба протокола прикупљања МЋ – великоволуменска леукафереза (LVL) и конвенционална афереза (CA). Међутим, утврђене су статистички значајне разлике између LVL и CA процедура на основу приноса CD34⁺ ћелија у харвесту ($p < 0,05$).

Волумен харвеста (са адекватним приносом CD34⁺ ћелија) био је статистички сигнификантно мањи у групи алогених трансплантација од сродног даваоца (прикупљање је изведено по оригиналном протоколу у Одељењу за аферезно лечење и хемотерапију Института) у поређењу са ћелијском суспензијом у оквиру MUD трансплантација (несродни донор). Међутим, није било значајних међугрупних разлика у показатељима квалитета аферезног продукта на основу поређења резултата квантификације CD34⁺ ћелија, нити у погледу волумена аспирата.

Из резултата се види да приноси појединих субсетова ћелија у периферној крви и харвесту нису били исти у функцији времена ("timing"). Принос примитивнијих МЋ (фенотипа CD34⁺/CD90⁺) био је статистички значајно бољи петог дана (од почетка апликације rHuG-CSF) у односу на шести дан ($p < 0,05$). Све то говорило је у прилог оправданости увођења LVL процедуре (једно аферезно прикупљање петог дана од почетка апликације rHuG-CSF) и њене примене током протеклих година.

У циљу бољег сагледавања фенотипске дистрибуције крвнотипног система АБО у контролној групи (АБО-компатибилне трансплантације), приказани су основни фенотипови парова донор/реципијент (подударне крвне групе), с тим да је фенотип А подељен у А₁ и А₂, јер се ради о подгрупама са специфичним карактеристикама. Код АБО-инкомпатибилних парова, посебно су сврстане и табеларно приказане трансплантације код којих је постојала мајор, минор или

бидирекцијска неподударност између даваоца и примаоца у крвногрупном систему АБО. Минор АБО-инкомпатибилност постојала је код укупно 30 болесника – то је приближно одговарало половини од свих неподударности у систему АБО (укључујући и подгрупе фенотипова А и АБ (А₁Б/О, А₁Б/А₁ и А₂Б/А₁). Резултати тестирања система Rhesus, Kell, Kidd, P, MNS и Duffy код парова донор/реципијент су потврдили да је постојала чешћа појава неусклађености на основу једног антигена система Rhesus, при чему се у око 20% радило о антигену "с". То је била практично дупло већа учесталост неусклађености у поређењу са АБО-компатибилним трансплантацијама МТ. Ипак, у овој групи болесника нису уочени било какви споредни ефекти или компликације ових разлика проузроковани различитим антигенима система Rhesus, Kell, Kidd, P, MNS и Duffy.

Примери цитогенетске провере донорског химеризма такође су приказани. Код болеснице са АМL-M2 и иницијалним кариотипом 46, XX, t(8;21)(q22;q22) [8] / 46, XX [12] 6 месеци после трансплантације постигнуто је прихватање алокалема донора-сестре са кариотипом 46, XX [20] (примарна трансплантација). Након секундарне трансплантације утврђен је кариотип донора-брата – тачније, кариотип: 46, XY [20]. Примери комплетног химеризма или конверзије специфичних антигена еритроцитних крвногрупних система (коришћена је микроаглутинацијска техника у картицама) после изведених мајор, односно минор АБО-инкомпатибилних MUD трансплантација илустровани и доказани су у неколико слика.

Резултати испитивања кинетике прихватања алокалема на основу опоравка неутрофилних полиморфонуклеара и тромбоцита код болесника који су лечени АБО-компатибилном и третирани АБО-инкомпатибилном трансплантацијом указују на то да не постоји статистички значајна разлика у кинетици прихватања ћелија ове две лозе. Упоредом две групе болесника нису констатоване статистички значајне разлике (Munn-Whitney test; t-test) по учесталости свеукупне инциденце аGvHD (83/140 или 59,51% vs. 35/62 или 56,6%). Међутим, код болесника лечених АБО-инкомпатибилном трансплантацијом констатована је сигнификантно ($p < 0,05$) чешћа појава интензивног степена аGvHD (степен 3–4), у односу на АБО-компатибилну групу (15/62 или 24,5% vs. 10/140 или 7,4%). У овој клиничкој студији нису постојале статистички значајне разлике у погледу појаве/инциденце hGvHD – и то, како лимитираног (38/140 или 27,3% vs. 18/62 или 28,3 %), тако и екстензивног облика (35/140 или 24,8 % vs. 13/62 – 22,6%) ове компликације – између две испитиване групе болесника (Munn-Whitney test; odnosno t-test). Добијени резултати су указали на значајно боље ($p < 0,05$) преживљавање код болесника са АБО-компатибилношћу у односу болеснике лечене АБО-инкомпатибилном трансплантацијом ($127,25 \pm 48,2$ vs. $89,05 \pm 47,3$ месеци). Најзад, код два болесника су констатовани симптоми и знаци чисте еритроцитне аплазије (Pure Red Cell Aplasia – PRCA).

3. ОЦЕНА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

У поглављу **ДИСКУСИЈА** кандидат коректно, садржајно и критички сагледава добијене резултате у оквиру постојећих сазнања добијених прегледом литературе која се бави проблемима алогене трансплантације код хематолошких болесника. Начин на који је дискусија написана указује на то да др Марика Љубенов у потпуности влада материјом из области којој припада тема докторског рада. Већина студија цитираних у овом раду разматра само појединачне проблеме везане за алогене трансплантације, док кандидат сагледава повезаност и међусобни утицај више њих истовремено. Аргументовано објашњава разлике између својих резултата и оних из сличних истраживања из дате области. Овим је надоградила своје претходно истраживање објављено у магистарском раду. Теза доприноси бољем разумевању ефеката АБО-инкомпатибилности на степен и кинетику прихватања алокалема, утицају имунохематолошког тестирања, прилагођених аферезних процедура на ток и исход алогених

трансплантација МЋ код хематолошких болесника. Теза доприноси бољем разумевању важности примене пери-трансплантацијских *in vivo* и *ex vivo* третмана у трансплантацијској медицини као и њихов утицај на појаву уобичајених компликација након трансплантације, чиме је могуће смањити њихов број и интензитет, а тиме побољшати успешност овог вида лечења.

На основу података приказаних у делу Резултати и разматрања/компарација у делу Дискусија, кандидат генерално сматра да оптимизација и контрола квалитета протокола прикупљања МЋ су битан чинилац и предуслов за успешно лечење применом свих модалитета трансплантација, тако и АБО-инкомпатибилних. Извесно је да АБО-инкомпатибилност примаоца и даваоца, иако не представља апсолутну контраиндикацију, може утицати на ток и исход алогене трансплантација у односу на кинетику прихватања појединих крвних лоза (еритроцити), инциденцу компликација (aGvHD интензивнијег степена). На основу свега изнетог и илустрованог кандидат закључује да:

- Примењени мобилизацијски протоколи у овом истраживању су се показали као ефикасни. Утврђена је корелација између приноса CD34⁺ ћелија и кинетике и реконституције хематопоезе. Извођењем LVL, заступљеност примитивнијих CD34⁺/CD90⁺ ћелија била је већа. Њихов већи број утицао је на дуготрајно одржавање алокалема.
- Имунохематолошким испитивањем антигена еритроцита било је могуће добити поуздани доказ о прихватању алокалема. Појава нових донор-специфичних антигена у фенотипу примаоца и нестајање раније присутног реципијент-специфичног антигена имали су подједнак значај за доказивање химеризма.
- Време доказивања новог донор-специфичног антигена после трансплантације у просеку било је 87,9±36,2 дана. Цитогенетска испитивања дала су веома поуздан, а у односу на хемофенотипизацију ранији (у просеку +28. дан) податак о прихватању алокалема.
- У овој серији болесника запажено је краће преживљавање болесника после АБО-инкомпатибилне трансплантације због већег ризика од потенцијално фаталног aGvHD степена 3–4. Имајући у виду хетерогеност групе према природи основне болести, извору МЋ и кондиционом режиму, овакви резултати морају бити прихваћени са резервом.

4. ОБЈАВЉЕНИ РЕЗУЛТАТИ КОЈИ ЧИНЕ ДЕО ТЕЗЕ

1. Balint B, **Ljubenov M**, Stamatović D, Todorović M, Pavlović M, Ostojić G, Jocić M, Trkuljić M. Stem cell harvesting protocol research in autologous transplantation setting: large volume vs. conventional cytopheresis. *Vojnosanit Pregl.* 2008;65(7):545-51
2. Balint B, Todorovic-Balint M, **Ljubenov M**, Tarabar O, Pavlovic M, Kanjuh V. Apheretic "rescue-protocol" designed for treatment of CLL associated life-threatening hemolytic crisis. *Transfus Apher Sci.* 2015;52(2):256-8.
3. Stamatović D, Balint B, Tukić L, Elez M, Tarabar O, Todorović M, Ostojić G, Tatomirovic Z, **Ljubenov M**, Marjanović S, Malešević M. Impact of stem cell source on allogeneic stem cell transplantation outcome in hematological malignancies. *Vojnosanit Pregl* 2011;68(12):1026-32

5. ЗАКЉУЧНО МИШЉЕЊЕ И ПРЕДЛОГ:

Кандидаткиња ВС асист. мр сц. мед. Марика Љубенов испуњава све услове дефинисане одлуком Наставно-научног већа бр. 13/525 од 25.11.2010. године. Докторска теза под насловом: „ОЦЕНА ЕФЕКТА АБО-ИНКОМПАТИБИЛНОСТИ И ПЕРИ-ТРАНСПЛАНТАЦИЈСКИХ *IN VIVO* И *EX VIVO* ТРЕТМАНА НА ПРИХВАТАЊЕ АЛОКАЛЕМА И ПОЈАВУ КОМПЛИКАЦИЈА ПОСЛЕ ТРАНСПЛАНТАЦИЈЕ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА ХЕМАТОПОЕЗЕ” представља оригинални научни рад из области трансфузиологије. Истраживање је спроведено по свим начелима научно-истраживачког рада. Теза је написана јасно, систематично, студиозно и целовито. Добијени резултати доприносе фундаменталним сазнањима о повезаности АБО-инкомпатибилности са током и исходом алогених трансплантација, тј. степеном и кинетиком прихватања алокалема, а такође доприносе и сазнањима о појави имунски посредованих компликација након трансплантација.

На основу изнетог, чланови комисије једногласно закључују да докторска теза ВС асист. мр сц. мед. Марике Љубенов испуњава све предвиђене критеријуме које академска пракса захтева, и као таква представља значајан допринос проучавању дате проблематике. С обзиром да кандидаткиња испуњава све законом предвиђене услове за одбрану тезе, комисија са највећим задовољством предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду да овај рад прихвати као завршену докторску тезу и омогући њену јавну одбрану.

Београд, 23.11.2015.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ :

Проф. др Бела Балинт,
дописни члан САНУ

Проф. др Драгана Стаматовић

Проф. др Милена Годоровић-Балинт

Доц. др Оливера Тарабар

Доц. др Душан Вучетић