

## IZVJEŠTAJ O OCJENI I PODOBNOSTI TEME I KANDIDATA ZA IZRADU DOKTORSKE DISERTACIJE

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci broj: 18-3-435/2012 od 19. juna 2012. godine imenovana je Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata **mr sci Maje Travar**, za izradu doktorske teze pod nazivom „**Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis***“.

Članovi Komisije za ocjenu podobnosti teme i kandidata:

1. **Dr Lazar Ranin, redovni profesor, uža naučna oblast, Medicinska mikrobiologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu, predsjednik;**
2. **Dr Miroslav Petković, vanredni profesor, uža naučna oblast Medicinska mikrobiologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, član;**
3. **Dr Nela Rašeta, vanredni profesor, uža naučna oblast Patološka fiziologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, član.**

Komisija za ocjenu podobnosti teme i kandidata u navedenom sastavu pregledala je materijal prijave teme za izradu doktorske teze kandidata mr sci dr Maje Travar i podnosi slijedeći

### IZVJEŠTAJ

#### 1. BIOGRAFSKI PODACI, NAUČNA I STRUČNA DJELATNOST KANDIDATA

- Osnovni biografski podaci, diplome i zvanja

Maja (Miloša) Travar, (rođ. Vrhovac) rođena 1975. godine u Banjoj Luci.

Adresa: Zavod za Mikrobiologiju, Klinički centar Banja Luka, ulica 12 beba, Banja Luka 78000.

Telefon: +387 65 362 809

Telefaks: +387 51 370 724

E-mail: [maja@blic.net](mailto:maja@blic.net), [maja.travar@kc-bl.com](mailto:maja.travar@kc-bl.com)

#### **Obrazovanje**

Osnovnu i Medicinsku školu završila u Banjoj Luci odličnim uspjehom kao učenik generacije.

1994-2000      Medicinski fakultet Univerzitet u Banjoj Luci  
dodiplomska nastava, prosjek 9,43

- Diplomski rad „Etiopatogeneza perniciozne anemije“ odbranjen sa ocjenom 10, mentor prof. dr Sandra Hotić-Lazarević
- Dobitnica Zlatne plakete Univerziteta u Banjoj Luci, novembar 2000. godine

2001-2003      Postdiplomski studij BIOMEDICINA, Medicinski fakultet Univerziteta u

Ljubljani, Republika Slovenija, Područje: Mikrobiologija i imunologija

2003           Magistarski rad: „Raspored genotipova virusa hepatitisa C u Sloveniji“, pod mentorstvom prof. dr Srečka Korena, odbranjen 1. jula 2003. godine sa ocjenom 10.

2003—2006. Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci: Specijalizacija iz medicinske mikrobiologije sa parazitologijom, mentor prim dr Nada Karadža

2007.        Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci  
Specijalistički ispit iz medicinske mikrobiologije sa parazitologijom

### **Napredovanje u profesiji**

2000-2003.        Asistent na Katedri za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci

2003-2007.        Specijalizant medicinske mikrobiologije sa parazitologijom

2007-sad        Specijalista medicinske mikrobiologije sa parazitologijom u Zavodu za mikrobiologiju KC Banja Luka

2010.-sad        Viši asistent na Katedri za mikrobiologiju i imunologiju Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci

### **Članstvo u profesionalnim udruženjima**

- Član Udruženja medicinskih mikrobiologa i parazitologa Republike Srpske
- Član European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases [ESCMID]
- Član Društva doktora medicine Repulike Srpske

### **Ostalo**

- Koordinator kontrole kvaliteta u Zavodu za mikrobiologiju KC Banja Luka.
- Koordinator za kontinuiranu medicinsku edukaciju [ KME] Zavoda za mikrobiologiju KC Banja Luka.
- Član Odbora za kontinuiranu medicinsku edukaciju Udruženja medicinskih mikrobiologa i parazitologa Republike Srpske.

### **BIBLIOGRAFIJA**

#### **Magistarski rad**

„Raspored genotipova virusa hepatitisa C u Sloveniji“, Medicinski fakultet Univerziteta u Ljubljani, Slovenija

#### **Naučno-istraživački radovi**

Seme K, Vrhovac M, Mocilnik T, Maticic M, Lesnicar G, Baklan Z, Volkar JM, Rajter M, Stepec S, Lunar M, Poljak M. Hepatitis C virus genotypes in 1504 patients in Slovenia, 1993-2007. J Med Virol. 2009 Apr; 81[ 4]:634-9.

PMID: 19235845 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Mirjanić-Azarić B, Derić M, Vrhovac M, Males-Bilić L. Correlation between C-reactive protein levels with leading risk factors for cardiovascular disease in men. Med Pregl. 2008 Mar-Apr;61[ 3-4] :164-8.

PMID: 18773693 [PubMed - indexed for MEDLINE]

Mirjanić-Azarić B, Derić M, Vrhovac M, Sukalo D. The correlation between lifestyle and lipid profile. Med Pregl. 2006 Jan-Feb;59[ 1-2] :57-62.

PMID: 17068893 [PubMed - indexed for MEDLINE]

### **Stručni radovi**

Vrhovac M, Janjetović S, Rakita-Musić M, Petković M. Osjetljivost na antimikrobne lijekove sojeva *Streptococcus pneumoniae* izolovanih u u Kliničkom centru Banja Luka u periodu od 1998. do 2001. Godine. Scr Med 2002; 33[ 2] :95-100.

### **Kongresna saopštenja**

Vrhovac M, Petkovic M, Rakita-Music M. Susceptibility of *Streptococcus pneumoniae* isolates from Clinic Centar Banja Luka on antimicrobial agents. Oral presentation at the 5th European Congress of Chemotherapy and Infection, Rhodes, GREECE,2003

Vrhovac M, Mirjanic-Azaric B. *Helicobacter pylory* seroprevalence in Banja Luka area. Oral presentation at the XII Helicobacter Study Group, Wiena, AUSTRIA 2004.

## **2. ZNAČAJ I NAUČNI DOPRINOS ISTRAŽIVANJA „Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*“**

- **Značaj istraživanja „Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*“**

Istraživački projekat pod nazivom **Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*** “ značajan je jer je to prva studija koja proučava ulogu potpuno novog interferona tipa III, koji je otkriven 2003 godine, u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*. Kao što je poznato, jedna trećina svjetske populacije je inficirana bacilom tuberkuloze, a svake godine od tuberkuloze umre preko 1,5 milion ljudi. Mehanizmi kojima imunski sistem kontroliše infekciju bacilom tuberkuloze nisu do kraja razjašnjeni, a do sada ni jedna studija nije obrađivala ulogu interferona lambda (IFN-λ) koji uključuje tri citokina i to IFN-λ1 (IL-29), IFN-λ2 (IL-28A) i IFN-λ3 (IL-28B) u imunskom odgovoru na *M. tuberculosis*.

Već dugo je poznato da su interferoni značajni za imunski odgovor na infekciju mikobakterijama. U slučaju interferona tipa II (IFN-γ), koji je glavni u zaštitnom odgovoru na *M. tuberculosis* i ostale mikobakterije kod ljudi i miševa, njegov primarni izvor su CD4+ i CD8+ T limfociti. Danas je poznato da i ćelije prirodne ubice (NK limfociti), γδ T ćelije i ćelije urođenog imunskog odgovora mogu da budu izvori IFN-γ u odgovoru na stimulaciju mikobakterijama.

Za razliku od IFN-γ, u literaturi nema dovoljno slaganja o ulozi IFN tipa I u odgovoru na infekciju mikobakterijama, mada postoje podaci da ovaj tip interferona prije dovodi do

širenja, nego ograničavanja infekcije. Posebno u slučajevima infekcije sa hipervirulentnim sojevima *M. tuberculosis* dolazi do pojačane sinteze IFN tipa I, koja je povezana sa poremećajem Th1 imunskog odgovora. Skorašnje studije su pokazale da indukcija sinteze interferona tipa I može da bude odlučujući faktor za ishod humane tuberkuloze. Ukupno posmatrano, istraživanja upućuju da tipovi IFN I smanjuju zaštitni imunski odgovor u slučaju humane infekcije mikobakterijama. Oba puta indukcije sinteze IFN tipa I izazvanih mikobakterijama i mehanizmi kojim oni utiču na imunski odgovor predmet su aktivnih istraživanja.

Tokom 2003. godine dvije grupe istraživača nezavisno su otkrile tri nova interferonu slična citokina koji su označeni kao IFN $\lambda$ -1, IFN  $\lambda$ -2 i IFN  $\lambda$ -3 (odnosni interleukin-29, IL-28 A i IL-28B). Mikroorganizmi ili njihove strukturne komponente, kao što su bakterijska DNK, endotoksin i dsRNK, indukuju selektivnu ekspresiju IFN- $\beta$  i IFN- $\lambda$ . Lipopolisaharid kao agonist TLR, te poli I:C koji signaliziraju preko TLR3 i 4, indukuju ekspresiju IFN- $\beta$  i IFN- $\lambda$ . Navedeni mehanizam ekspresije IFN- $\beta$  i IFN- $\lambda$  mogao bi da bude značajan u aktivaciji imunskog odgovora na *M. tuberculosis*.

### **Pregled istraživanja**

Tuberkuloza je jedna od češćih bakterijskih bolesti na svijetu [1]. Svjetska zdravstvena organizacija (SZO) procjenjuje da je samo u 2009. godini bilo 9,4 miliona novih slučajeva tuberkuloze, sa 1,6 miliona smrtnih slučajeva, a da je 2 milijarde ljudi latentno inficirano *Mycobacterium tuberculosis*, odnosno jedna trećina svjetske populacije [1,2]. Većina infekcija ostaje asimptomatska, zahvaljujući zaštitnom imunskom odgovoru [3]. Prema podacima SZO, 15-20% ljudi sa bliskim kontaktom ima latentnu infekciju, od kojih 10% kasnije razvije aktivnu tuberkulozu [3,4]. Najvažniji imunski faktori u kontroli infekcije su interferon gama (IFN- $\gamma$ ) i citokini IL-1, IL-10 i IL-12, mada su neophodna dodatna istraživanja kompleksnosti imunskog odgovora na infekciju *M. tuberculosis* [3,4].

IL-10 je citokin koji je povišen kod pacijenata sa aktivnom tuberkulozom, a dokazano je da IL-10 smanjuje zaštitni odgovor na mikobakterije na životinjskom modelu [3]. Skoro je dokazano da IL-10 blokira sazrijevanje fagocitima unutar humanih alveolarnih makrofaga. Unutar plućnih lezija on značajno redukuje ekspresiju TNF i IL-12p40.

*M. tuberculosis* je jak induktor IL-12p40 podjedinice citokina IL-12, a deficijencija ovog citokina vodi do pojačane osjetljivosti na mikobakterijsku infekciju kod ljudi. Ovaj citokin može da ima oblik homodimera ili heterodimera, a signaliziranje ide kroz IL-12 receptorski  $\beta$ 1 lanac (IL-12R $\beta$ 1) [5].

Istraživanja su pokazala da su miševi deficijentni za IL-1 $\beta$  jako osjetljivi na infekciju *M. tuberculosis*, upućujući na to da je IL-1 $\beta$  značajan za prirodnu otpornost i ne može da bude kompenzovan pomoću IL-1 $\alpha$ , iako signaliziranje ide kroz isti IL-1R1 kompleks [6]. IL-1 $\beta$  je potentan pirogeni citokin, jake biološke aktivnosti, čija sinteza mora da bude pažljivo regulisana [6]. Ovo se postiže različitim mehanizmima, uključujući kontrolu ekspresije gena i posttranskripcijske modifikacije molekula, te regulacijom sinteze receptora [6]. Makrofagi porijeklom iz kostne srži i dendritične ćelije izložene *M. tuberculosis in vitro* produkuju IL-1 $\beta$  preko porodice "nod like" receptora. Ova produkcija je zavisna od mikobakterijskog ESAT-6 sekrecijskog sistema (ESX-1), koji utiče na oslobađanje glavnih faktora virulencije kodiranih u RD-1 regionu genoma *M. tuberculosis* [7].

Interferoni su veoma značajni za imunski odgovor na infekciju mikobakterijama [8]. Cooper i saradnici, izučavajući ekspresiju gena iz pune krvi velike grupe pacijenta sa latentnom i

aktivnom tuberkulozom, našli su da većina pacijenata sa aktivnom infekcijom pokazuje značajnu ekspresiju gena za IFN u neutrofilima. Isti profil ekspresije je prisutan, takođe, i kod približno 10% asimptomatskih pacijenata sa latentnom infekcijom, što upućuje na to da ove osobe predstavljaju podgrupu sa najvećim rizikom za razvoj aktivne tuberkuloze [9].

Prvi radovi vezani za otkriće novog tipa interefrona vezana su za 2003. godinu, kada su dvije grupe istraživača nezavisno otkrile tri nova interferonu slična citokina koji su označeni kao IFN $\lambda$ -1, IFN  $\lambda$ -2 i IFN  $\lambda$ -3. Kaskada signaliziranja IFN- $\lambda$  je veoma slična kaskadi IFN tipa I (IFN- $\alpha$  i  $\beta$ ), što upućuje na sličan mehanizam djelovanja [10,11]. Sposobnost IFN- $\alpha$  da reguliše indukciju IFN- $\lambda$ , vjerovatno je posredovana ekspresijom TLR i IRF7 gena. Agonisti TLR indukuju diferencijalnu ekspresiju IFN- $\alpha$ ,- $\beta$  i - $\lambda$  gena u plazmatičnim dendritičnim ćelijama. Infekcija virusom indukuje koekspresiju IFN- $\alpha$ / $\beta$ / $\lambda$ , dok mikroorganizmi ili njihove strukturne komponente, kao što su bakterijska DNK, endotoksin i dsRNK, indukuju selektivnu ekspresiju IFN- $\beta$  i IFN- $\lambda$  [12]. Lipopolisaharid kao agonist TLR, te poli I:C koji signaliziraju preko TLR3 i 4, indukuju ekspresiju IFN- $\beta$  i IFN- $\lambda$  [13].

Interferoni su ključni citokini u različitim tipovima imunskog odgovora [14]. Do sada su poznata tri različita tipa interferona (tip I, II i III), a klasifikacija je zasnovana na njihovim strukturnim karakteristikama, receptorima i biološkoj aktivnosti [14]. Interferoni tipa I (IFN $\alpha$ / $\beta$ / $\omega$ / $\epsilon$ / $\kappa$  kod ljudi) pokazuju jaku intrizičnu antivirusnu aktivnost, dok je primarna aktivnost interferona tipa II regulacija imunskog odgovora [14].

IFN- $\gamma$  je klasifikovan kao interferon tipa II koji stimuliše ćelijski imunski odgovor koji je odlučujući u zaštiti protiv patogenih intracelularnih mikroorganizma, kao što je *M. tuberculosis* [15,16,17]. IFN- $\gamma$  igra centralnu ulogu u razvoju antitumorskog imunskog odgovora, te može indukovati antivirusnu aktivnost preko IFN- $\alpha$  i - $\beta$ . Tipovi IFN I i II često imaju zajedničku ulogu u aktivaciji urođenog i stečenog imunskog odgovora [11], što je veoma značajno kod infekcije *M. tuberculosis* [8].

Interferoni su dio velike porodice citokina klase II koji uključuju šest IL-10 povezanih citokina: IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24 i IL-26 [18,19]. Oni su grupisani u istu porodicu zbog toga što njihova signalizacija ide preko receptora koji dijele iste zajedničke motive u ekstracelularnom dijelu [19,20]. Ovi receptori obuhvataju porodicu citokinskih receptora klase II. Iako tercijarna struktura interferona tipa II podsjeća na strukturu IL-10, njegova primarna struktura se razlikuje od svih CRF2 liganada. Interferon tipa III, skoro otkriveni IFN- $\lambda$ , pokazuje strukturne karakteristike IL-10 citokina, ali pokazuje antivirusnu aktivnost u mnogim ciljnim ćelijama, što potvrđuje njihovu klasifikaciju u novi tip IFN [19-21].

Kod ljudi tri različita, ali srodna IFN- $\lambda$  1, 2 i 3 (poznata su i kao IL-29, IL-28A i IL-28B), formiraju porodicu IFN III [10,11,19]. Geni za IFN- $\lambda$ , filogenetski, nalaze se između gena za IFN tipa I i IL-10 [22]. Sekvence amino kiselina pokazuju homologiju u 5-18% sa IFN tipa I [10,19]. IFN- $\lambda$  proteini se vezuju i signaliziraju preko receptorskog kompleksa IFN- $\lambda$ R1 lanca (poznatog i kao IL-28 RA) i zajedničkog IL-10R2 lanca koji je dio receptorskog kompleksa za IL-10, IL-22 i IL 26 [21,22]. Signaliziranje preko ovih receptora izaziva aktivaciju istih Jak-STAT aktivacijskih kaskada [13,21,22].

Vezivanje IFN- $\lambda$  za receptor IFN- $\lambda$ R izaziva konformacijske promjene koje olakšavaju uključivanje drugog receptorskog lanca, IL10R2 u kompleks. Kad je veza formirana, Janus tirozin kinaze vezane za kompleks, Jak1 i Tyk2, posreduju trans-fosforilaciju receptorskog lanca. Biološka aktivnost uzrokovana interferonima tipa I i II je veoma slična, uključujući indukciju antivirusne aktivnosti i izražavanje molekula glavnog sistema histokompatibilnosti I (MHC I) na mnogim tipovima ćelija [13,23,24].

Geni za IFN- $\lambda$  su kod ljudi locirani na hromozomu 19 (region 19q13.13). Gen za IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) se prepisuje u obrnutom smjeru od IFN- $\lambda$ 1 (IL29) i IFN- $\lambda$ 2 (IL28A) gena. Kodirajuća regija svakog od ovih gena podijeljena je na pet eksona, a organizacija je slična kao i kod gena za citokine grupe IL-10. Za razliku od tipa II, geni za tip I IFN nemaju introne [22]. Iako je IFN- $\lambda$ R1 konstitutivno izražen na velikom broju ćelija i tkiva, postoje mnogi tipovi ćelija koji ne izražavaju IFN- $\lambda$ R. Ćelije epitelnog porijekla dobro reaguju na IFN- $\lambda$ , jer izražavaju visok nivo receptora [24]. Mehanizam ekspresije IFN $\lambda$ , te intracelularna kaskada signaliziranja mogli bi da bude značajan u aktivaciji imunskog odgovora na *M. tuberculosis* [12,13,25].

### **Radne hipoteze sa ciljem istraživanja**

#### **Hipoteze:**

Istraživanje polazi od sljedećih pretpostavki:

1. Kod pacijenata sa aktivnom tuberkuloznom infekcijom (tuberkuloza potvrđena klinički, radiološki i pozitivnom kulturom po Löwenstein-u) postoji povećani nivo IFN- $\lambda$  u sputumu u odnosu na grupu pacijenata sa latentnom tuberkulozom.
2. Kod pacijenata sa aktivnom tuberkuloznom infekcijom (tuberkuloza potvrđena klinički, radiološki i pozitivnom kulturom po Löwenstein-u) postoji povećani nivo IFN- $\lambda$  u sputumu u odnosu na grupu zdravih osoba.

#### **Cilj ovog istraživanja je da:**

- Utrvrdi da li postoji statistički značajna razlika u nivou IFN- $\lambda$  u sputumu osoba sa aktivnom tuberkuloznom infekcijom (tuberkuloza potvrđena klinički, radiološki i pozitivnom kulturom po Löwensteinu) u odnosu na nivoe IFN- $\lambda$  u sputumu osoba sa latentnom tuberkulozom i sputumu zdravih osoba.

Radne hipoteze i ciljevi su jasno definisani i izvodljivi.

### **Materijal i metode rada:**

Materijali

#### ***Ispitanici i mjesto ispitivanja***

Istraživanje bi se provelo u Kliničkom centru Banja Luka (KC) i Medicinskom fakultetu Univerziteta u Banjoj Luci.

Definisanje grupa ispitanika

1. U prvu grupu ispitanika bilo bi uključeno 30 pacijenata sa aktivnom tuberkuloznom infekcijom, koji su hospitalizovani na Klinici za plućne bolesti, KC Banja Luka. Infekcija mora biti potvrđena klinički, radiološki i pozitivnom kulturom po Löwenstein-u. Pacijenti bi bili starosti od 18 do 60 godina, bez znakova drugih akutnih ili hroničnih bolesti, kod kojih je infekcija tek otkrivena ili im je skoro započeta terapija antituberkuloznim lijekovima (< 1 mjesec).
2. U drugu grupu ispitanika bilo bi uključeno 30 osoba koje su bile u bliskom kontaktu sa osobom oboljela od aktivne tuberkuloze (članovi porodice,

domaćinstva, kolektiva), kod kojih nema znakova aktivne tuberkulozne infekcije. Pacijenti bi bili starosti od 18 do 60 godina, bez znakova drugih akutnih ili hroničnih bolesti. Ovi pacijenti su svrstani u grupu latentno inficiranih.

3. U treću grupu ispitanika bilo bi uključeno 30 zdravih osoba, starosti od 18 do 60 godina, bez znakova bilo kakvih akutnih ili hroničnih bolesti, koji nisu bili u kontaktu sa osobama oboljelim od tuberkuloze niti su profesionalno izloženi infekciji

### ***Uzorci***

U studiji će se koristiti sputum (iskašljaj) uzet od ispitanika u definisanim grupama. Za prvu grupu ispitanika uzorci će se uzimati u dva navrata, prvi odmah po otkrivanju bolesti, a drugi nakon šest mjeseci, odnosno nakon završetka terapije. Za ostale dvije grupe, uzorci će se uzimati na početku ispitivanja.

Jutarnji iskašljaj je najpogodniji uzorak;

- prije uzimanja sputuma bolesniku ili ispitaniku će biti objašnjeno kako pravilo dati uzorak;
- bolesnik ili ispitanik bi trebao da opere zube četkicom bez zubne paste i ispere usta vodom da bi se smanjio broj pratećih bakterija, dijelova hrane ili ostataka lijekova;
- kad god je moguće, poželjno je da se nadzire davanje uzorka iskašljaja;
- važno je da se bolesnik ili ispitanik upozori da nazofaringealni sekret ili pljuvačka nisu iskašljaj;
- bolesnik bi trebalo da se duboko nakašlje i izbacii iskašljaj (5-10 mL) u sterilnu posudu;
- uzorak iskašljaja trebalo bi dostaviti u laboratoriju u roku od 2 sata od uzimanja uz čuvanje na +4°C;

U rad će se uzeti dva uzorka sputuma od svakog ispitanika, jedan na početku ispitivanja, a drugi nakon šest mjeseci, radi praćenja dinamike infekcije. Prije uzimanja u rad biće provjeren kvalitet uzorka. U radu će se ispitivati samo uzorci koji zadovoljavaju standarde prema Bartlett-ovoj skali.

### Provjera kvaliteta sputuma

Prije uzimanja uzorka u obradu potrebno je da se provjeri kvalitet uzorka prema preporukama dobre laboratorijske prakse. Kvalitet uzorka će se posmatrati prema sljedećim parametrima.

Izračunati prosječan broj neutrofila i epitelnih ćelija u najmanje 20-40 vidnih polja pod malim uvećanjem na optičkom mikroskopu i preračunati ocjenu uzorka iz priložene tabele.

Tip ćelije	Ocjena
Neutrofil:	
<10	0
10-25	+1
>25	+2
Prisustvo mukusa	+1

Skvamozne epitelne ćelije	
10-25	-1
>25	-2

Uzorak će se odbaciti ukoliko je ukupna ocjena preparata 0 i manje.

Kvalitet uzorka pojednostavljeno je moguće izračunati iz odnosa broja skvamoznih epitelnih ćelija i upalnih ćelija, odnosno:

Kriterij odbacivanja:  $\geq 10$  SEC/PMN

Prihvatljivo:  $< 10$  SEC/PMN

## Metode

### **Dokazivanje nivoa IFN- $\lambda$ u sputumu**

Nivo IFN - $\lambda$  u serumu bi se dokazao dijagnostičkim kompletom VeriKine Human *DIY* IFN  $\lambda$  (IL-28B/29, 28A) [PBL Interferon Source] ELISA, prema preporukama proizvođača.

### **Statistička obrada dobijenih podataka**

Formiranje odgovarajuće baze podataka sa podacima o ispitanicima i vrijednostima pojedinačnih ispitivanja biće izvršeno odmah nakon započinjanja studije.

Numerički podaci deskriptivne statistike biće prikazani kao srednje vrijednosti  $\pm$  standardna devijacija.

Za testiranje statističke značajnosti razlika u distribuciji posmatranih obilježja, u studiranim populacijama, primjenjivaće se  $\chi^2$  – kvadrat test. U slučaju da u pojedinim poljima tabele kontigencija frekvence bude manja ili jednaka 5, primjenjivaće se Fišerov test.

Pri testiranju srednjih vrijednosti posmatranih populacija primjenjivaće se Studentov t test.

Statistička obrada podataka biće izvršena programom Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 16.0. [SPSS Inc., Chicago, IL, USA] .  $P < 0.05$  će se smatrati statistički značajnom.

- **Naučni doprinos istraživanja „Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*“.**

U prijavljenoj doktorskoj tezi, kandidat treba dati naučni doprinos u istraživanju uloge interferona lambda (IFN- $\lambda$ ) u imunskom odgovoru na infekciju *M. tuberculosis*. Istraživanjem su obuhvaćeni pacijenti sa aktivnom tuberkuloznom infekcijom pluća, osobe sa latentnom tuberkuloznom infekcijom, te zdrava populacija. Kao uzorak je odabran sputum, budući da se u njemu nalaze ćelije koje učestvuju u različitim imunskim mehanizmima koji nastaju kao reakcija na infekciju *M. tuberculosis*. Navedene ćelije su glavni izvor IFN- $\lambda$ , kao i ostalih citokina koje učestvuju u imunskom odgovoru.

Obzirom da do sada ni jedna studija nije proučavala ulogu interferona (IFN- $\lambda$ ) koji uključuje tri citokina i to IFN- $\lambda$ 1 (IL-29), IFN- $\lambda$ 2 (IL-28A) i IFN- $\lambda$ 3 (IL-28B) u imunskom odgovoru na *M. tuberculosis*, predloženo istraživanje ima veliki stručni i naučni značaj.



• **Citirana literatura u poglavlju pregled istraživanja:**

1. Stop TB Partnership. WHO report 2008.
2. Global Tuberculosis Control. WHO report 2010.
3. Cardona P. Ruiz-Manzano J. On the nature of Mycobacterium tuberculosis-latent bacilli. *European Respiratory Journal*. 2004;24:1044.
4. van Pinxteren LAH. Cassidy JP. Smedegaard BHC. Agger EM. Andersen P. Control of latent Mycobacterium tuberculosis infection is dependent on CD8 T cells. *European journal of immunology*. 2000;30:3689–98.
5. Beamer G, et al. Interleukin-10 promotes Mycobacterium tuberculosis disease progression in CBA/J mice. *J Immunol*. 2008; 181:5545-50.
6. Mayer-Barber KD, et al. Cutting edge: caspase-1 independent IL-1beta production is critical for host resistance to Mycobacterium tuberculosis and does not require TLR signaling in vivo. *J Immunol*. 2010; 184:3326-30.
7. Koo, IC, Wang C, Raghavan S, Morisaki JH, Cox JS. ESX-1 dependent cytolysis in lysosome secretion and inflammasome activation during mycobacterial infection. *Cell Microbiol*. 2008; 10:1866-78.
8. Cooper AM, Mayer-Barber KD, Sher A. Role of innate cytokines in mycobacterial infection. *Mucosal Immunol* 2011; 4(3):252-60.
9. Berry MP, et al. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis. *Nature*. 2010; 466; 973-77.
10. Kotenko SV. Gallagher G. Baurin VV. Lewis-Antes A. Shen M. Shah NK. Langer JA. Sheikh F. Dickensheets H. Donnelly RP. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat Immunol*. 2003;4(1):69–77.
11. Sheppard P. Kindsvogel W. Xu W. Henderson K. Schlutsmeyer S. Whitmore TE. Kuestner R. Garrigues U. Birks C. Roraback J. Ostrander C. Dong D. Shin J. Presnell S. Fox B. Haldeman B. Cooper E. Taft D. Gilbert T. Grant FJ. Tackett M. Krivan W. McKnight G. Clegg C. Foster D. Klucher KM. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat Immunol*. 2003;4(1):63–68.
12. Dumoutier L. Tounsi A. Michiels T. Sommereyns C. Kotenko SV. Renauld JC. Role of the interleukin (IL)-28 receptor tyrosine residues for antiviral and anti-proliferative activity of IL-29/interferon-lambda 1: similarities with type I interferon signaling. *J Biol Chem*. 2004;279(31):32269–74.
13. Brand S. Zitzmann K. Dambacher J. Beigel F. Olszak T. Vlotides G. Eichhorst ST. Göke B. Diepolder H. Auernhammer CJ. SOCS-1 inhibits expression of the antiviral proteins, 2',5'-OAS and MxA, induced by the novel interferon-lambdas, IL-28A and IL-29. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005b;331(2):543–548.
14. Samuel CE. Antiviral actions of interferons. *Clin Microbiol Rev*. 2001;14(4):778–809.
15. Dorman SE. Picard C. Lammas D. Heyne K. van Dissel JT. Baretto R. Rosenzweig SD. Newport M. Levin M. Roesler J. Kumararatne D. Casanova JL. Holland SM. Clinical features of dominant and recessive interferon gamma receptor 1 deficiencies. *Lancet*. 2004;364(9451):2113–2121.
16. Schierloh P, Yokobori N, Alemán M, et al. Mycobacterium tuberculosis-Induced Gamma Interferon Production by Natural Killer Cells Requires Cross Talk with Antigen-Presenting Cells Involving Toll-Like Receptors 2 and 4 and the Mannose Receptor in Tuberculous Pleurisy. *Infect Immun*. 2007 November; 75(11): 5325–37.
17. Bach EA. Aguet M. Schreiber RD. The IFN-gamma receptor: a paradigm for

- cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol*. 1997;15:563–91.
18. Pestka S. Krause CD. Walter MR. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev*. 2004;202:8–32.
  19. Kotenko SV. Donnelly RP. Type-III interferons: the interferon- $\lambda$  family. In: Meager A, editor. *The interferons: Characterization and application*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co; 2006. pp. 141–63.
  20. Langer JA. Cutrone EC. Kotenko S. The class II cytokine receptor (CRF2) family: overview and patterns of receptor-ligand interactions. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2004;15(1):33–48.
  21. Donnelly RP. Sheikh F. Kotenko SV. Dickensheets H. The expanded family of class II cytokines that share the IL-10 receptor-2 (IL-10R2) chain. *J Leukoc Biol*. 2004;76(2):314–21.
  22. Kotenko SV. The family of IL-10-related cytokines and their receptors: related, but to what extent? *Cytokine Growth Factor Rev*. 2002;13(3):223–40.
  23. Lasfar A. Lewis-Antes A. Smirnov SV. Anantha S. Abushahba W. Tian B. Reuhl K. Dickensheets H. Sheikh F. Donnelly RP. Raveche E. Kotenko SV. Characterization of the mouse IFN-lambda ligand-receptor system: IFN-lambdas exhibit antitumor activity against B16 melanoma. *Cancer Res*. 2006;66(8):4468–77.
  24. Witte K. Gruetz G. Volk HD. Looman AC. Asadullah K. Sterry W. Sabat R. Wolk K. Despite IFN-lambda receptor expression, blood immune cells, but not keratinocytes or melanocytes, have an impaired response to type-III interferons. *Genes Immun*. 2009;10(8):702–14.
  25. Li M, Liu X, Zhou Y, Su BS. Interferon- $\lambda$ s: the modulators of antiviral, antitumor, and immune responses. *J Leukoc Biol*. 2009; 86:23-32

### 3. OCJENA I PRIJEDLOG

Na osnovu uvida u rad kandidata, priloženu dokumentaciju, biografiju i bibliografiju kandidata, zaključuje se da kandidat mr sc Travar dr Maje ispunjava sve propisane uslove za odobrenje teme za izradu doktorske disertacije u skladu sa važećim propisima Zakona o Univerzitetu i Statuta Univerziteta u Banjoj Luci.

Predložena tema je stručno aktuelna kako sa naučnog stanovišta tako mogućnošću primjene, kako je navedeno u obrazloženju naučnog doprinosa istraživanja.

Navedene metode istraživanja predstavljaju adekvatne, zadovoljavajuće i pouzdane tehnike istraživanja kojima je moguće dobiti dovoljno pouzdane i validne rezultate.

Komisija smatra da postoje odgovarajući stručni uslovi da kandidat može uspješno realizovati sve postavljene zahtjeve vezane za izradu doktorske teze i da dobije pouzdane i značajne rezultate.

Na osnovu svega izloženog, Komisija za ocjenu podobnosti kandidata i teme doktorske disertacije ocjenjuje da je predložena tema stručno aktuelna, da kandidat mr sc. dr Maja Travar, specijalista medicinske mikrobiologije i parazitologije, ispunjava sve uslove za prijavu doktorske disertacije te Komisija za ocjenu podobnosti kandidata i teme doktorske disertacije predlažu Senatu Univerziteta u Banjaluci da prihvati temu pod naslovom

**„Interferon lambda u imunskom odgovoru na *Mycobacterium tuberculosis*“** za izradu doktorske disertacije kandidata mr sc. dr Maje Travar.

Banja Luka, jul 2012. godine

Prof. dr Lazar Ranin, redovni profesor

---

Prof. dr Miroslav Petković, vanredni profesor

---

Prof. dr Nela Rašeta, vanredni profesor

---