

Биолошки факултет
Број захтева: 15/35-1
Датум: 30.01.2015.

УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
ВЕЋУ НАУЧНИХ ОБЛАСТИ ПРИРОДНИХ НАУКА

ЗАХТЕВ

**за давање сагласности на реферат о урађеној докторској дисертацији
за кандидата магистра наука који брани дисертацију према ранијим
прописима**

Молимо да, сходно члану 47. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник Универзитета", број 162/11-пречишћени текст, 167/12, 172/13 и 178/14), дате сагласност на реферат о урађеној докторској дисертацији:

КАНДИДАТ: **Мр Наташа Ј. Стрелић**

пријавио је докторску дисертацију под називом:

„Значај молекуларне детекције бактерија у терапији Reiter-овог синдрома“.

из научне области: Биолошке науке.

Универзитет је дана 27.12.2010. године, својим актом под бр. 02 број: 020-5002/33-10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације која је гласила:

„Значај молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома“.

Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације образована је на седници одржаној 09.10.2014. год, одлуком Факултета под бр. 15/664-09.10.2014. год. у саставу:

	Име и презиме члана комисије	звање	научна област	Установа у којој је запослен
1.	др Јелена Кнежевић- Вукчевић	Редовни професор	Биологија микроорганизама	Универзитет у Београду -Биолошки факултет
2.	др Звонко Магић	Редовни професор	Хумана генетика	Универзитет одбране у Београду-Медицински факултет-ВМА
3.	др Бојана Цикота- Алексић	Научни сарадник	Хумана генетика	Институт за медицинска истраживања-ВМА у Београду

Напомена: уколико је члан Комисије у пензији навести датум пензионисања.

Наставно-научно веће факултета прихватило је реферат Комисије за оцену и одбрану докторске дисертације на седници одржаној 30. јануара 2015. године.

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Прилог: 1. Реферат комисије са предлогом.

2. Акт Наставно-научног већа факултета о усвајању реферата

3. Примедбе дате у току стављања реферата на увид у јавности, уколико је таквих примедби било.

4. Електронска верзија.



УНИВЕРЗИТЕТ У БЕОГРАДУ
БИОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Студентски трг 16
11000 БЕОГРАД
Република СРБИЈА
Тел: +381 11 2186 635
Факс: +381 11 2638 500
Е-пошта: dekanat@bio.bg.ac.rs

15/35-30.01.2015.

На основу члана 128. Закона о високом образовању и члана 59. став 1. тачка 1. Статута Универзитета у Београду-Биолошког факултета, Наставно-научно веће Факултета, на IV редовној седници одржаној 30.01.2015. године, донело је

О Д Л У К У

Прихвата се Извештај Комисије за преглед, оцену и одбрану докторске дисертације кандидата:

Мр Наташе Ј. Стрелић, под називом:

„Значај молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома“.

Универзитет је дана 27.12.2010. године, својим актом под бр. 02 број: 020-5002/33-10 дао сагласност на предлог теме докторске дисертације кандидата.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја:

1. **M22:** Strelić N, Bojović J, Pavlica L, Cikota-Aleksić B, Miličić B, Magić Z. Detection of bacteria and analysis of *Chlamydia trachomatis* viability in patients with postvenereal reactive arthritis. *Intern Med J* 2014; doi:10.1111/imj.12580 IF=1,699
2. **M23:** Pavlica Lj, Nikolic D, Magic Z, Brajuskovic G, **Strelić N**, Milicic B, Jovelić A. Successful treatment of postvenereal reactive arthritis with synovectomy and 3 months' azithromycin. *J Clin Rheumatol* 2005;11:257-63. IF=0,344

Декан Биолошког факултета

Проф. др Јелена Кнежевић-Вукчевић

Доставити:

- Универзитету у Београду,
- докторанту,
- Стручној служби Факултета.

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ

На I редовној седници Наставно-научног већа Биолошког факултета Универзитета у Београду, одржаној 09.10.2014. године, прихваћен је извештај ментора др Звонка Магића и др Јелене Кнежевић-Вукчевић о урађеној докторској дисертацији Наташе Стрелић, магистра биолошких наука запослене у Институту за медицинска истраживања Војномедицинске академије у Београду, под насловом „*Значај молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома*“, и одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације у саставу: др Јелена Кнежевић-Вукчевић, редовни професор Биолошког факултета Универзитета у Београду, др Звонко Магић, редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду и др Бојана Цикота-Алексић, научни сарадник Института за медицинска истраживања Војномедицинске академије у Београду. Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидаткиње и Већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији:

Докторска дисертација мр Наташе Стрелић под насловом „*Значај молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома*“ написана је на 121 страни текста и подељена је на следећа поглавља: Увод (25 страна), Хипотеза и циљеви (2 стране), Материјал и методе (13 страна), Резултати (27 страна), Дискусија (12 страна), Закључци (3 стране) и Литература (16 страна). Докторска дисертација садржи 31 слику и 14 табела. У докторској дисертацији је цитирано 133 изворних литературних података.

Анализа докторске дисертације:

У докторској дисертацији кандидаткиње мр Наташе Стрелић представљени су резултати истраживања које је спроведено у оквиру научно-истраживачког пројекта Војномедицинске академије у Београду: "Значај молекуларне детекције и квантификације инфективног агенса за процену трајања антибиотске терапије код болесника са постуретритисним реактивним артритисом".

У **уводу** је дат опширан преглед досадашњих сазнања о реактивном артритису односно Рајтеровом синдрому и молекуларној основи болести. Рајтеров синдром припада групи реуматских болести која је позната под називом серонегативне спондилоартропатије. Серонегативне се називају зато што је вредност аутоантитела реуматоидног фактора у крви оболелих унутар референтних вредности. Рајтеров синдром се испољава после акутне урогениталне или ентералне инфекције, а придружене офтамолошке и/или мукокутане промене чине клиничку слику потпуног облика болести. Понекад се јављају и инфламаторне промене у другим органима или системима што овој болести даје мултисистемски карактер. Водећи знак болести је артритис који почиње нагло и обично захвата један или неколико зглобова асиметрично на доњим екстремитетима. Раније се сматрало да је артритис у Рајтеровом синдрому реактивне природе јер није било могуће изоловати проузроковача из оболелог зглоба. Нове технологије су дале допринос расветљавању етиологије реуматских болести и указале да је артритис у урогениталном

облику Рајтеровог синдрома, поред генетичке предиспозиције и имунског одговора, условљен присуством бактерија у инфламираном зглобу, најчешћа *Chlamydia trachomatis*, али и *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum*. Ова сазнања побудила су наду да би антибиотска терапија могла бити терапија избора код болесника са Рајтеровим синдромом. Међутим, у неким студијама је показано да хламидије могу да остану у зглобу чак и после агресивне примене правилно одабраних антибиотика, због чега је процена ефикасности терапије од велике важности.

На основу расположивих литературних података, кандидаткиња је полазећи од хипотезе да ће се у узорцима синовије, синовијске течности и моноклеарних ћелија периферне крви налазити бар једна од наведених бактерија код свих болесника са урогениталним обликом Рајтеровог синдрома, и да су појава и исход болести повезани са присуством инфективних агенаса, формулисала следеће циљеве:

1. Коришћењем PCR методе утврдити присуство *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* и *Ureaplasma urealyticum* у узорцима синовије, синовијске течности и моноклеарних ћелија периферне крви болесника са урогениталним обликом Рајтеровог синдрома пре антибиотске терапије азитромицин или комбиноване антибиотске терапије ципрофлоксацином, тетрациклином и рокситромицином.
2. Утврдити присуство наведених инфективних агенаса у узорцима моноклеарних ћелија периферне крви болесника са урогениталним обликом Рајтеровог синдрома после спроведене хируршке (артроскопска синовијектомија) и антибиотске терапије.
3. Испитати повезаност присуства инфективних агенаса у синовији, синовијској течности и моноклеарним ћелијама периферне крви са појавом болести и исходом лечења код болесника са Рајтеровим синдромом.
4. "Real-time" PCR методом утврдити вијабилност *Chlamydia trachomatis* код болесника са Рајтеровим синдромом код којих је детектована бактерија PCR методом пре и после комбиноване антибиотске терапије и корелирати добијене резултате са клиничким карактеристикама болести.

У поглављу **Материјал и методе** кандидаткиња је јасно и детаљно представила дизајн истраживања, унутар којег су 42 болесника, уз писмену сагласност за учешће у студији (коју је одобрио Етички комитет Војномедицинске академије у Београду), испитивана и лечена у Клиници за реуматологију и клиничку имунологију и Клиници за ортопедију Војномедицинске академије. Начин узимања и обрада узорака као и методе које су коришћене за проверу постављене хипотезе и реализацију циљева су јасно и детаљно описане. У обради података коришћене су адекватне статистичке анализе.

Резултати који су добијени детекцијом микроорганизама PCR тестом показују да су пре терапије у узорцима синовијског ткива и течности, као и моноклеарних ћелија периферне крви групе болесника пре терапије азитромицином (прва група) најчешће детектоване бактерије биле *Mycoplasma hominis* (70%) и *Ureaplasma urealyticum* (40%), док је код групе болесника пре комбиноване терапије ципрофлоксацином, тетрациклином и рокситромицином (друга група) најчешћа бактерија била *C. trachomatis* (95,5%). PCR анализе су дале више позитивних налаза бактеријске ДНК у узорцима моноклеарних ћелија и синовијског ткива него у узорцима синовијске течности. Ови резултати показују да се болесници код којих су тестирани само узорци синовијске течности не могу сматрати негативним. Анализа вијабилности *C. trachomatis* на основу експресије гена који кодирају протеине HSP60, пролил-tPHK синтетазу, бакарпорфириноген III оксидазу, АТПазу која транспортује катјоне и компоненту честице која препознаје сигнал, је

показала да су бактерије биле вијабилне у зглобовима и периферној крви испитиваних болесника пре терапије.

Резултати који су добијени анализом ефеката синовијектомије праћене антибиотском терапијом (азитромицин или комбинована терапија ципрофлоксацином, тетрациклином и рокситромицином) показују да је код већине болесника могуће постићи клиничку ремисију. Обе терапије су довеле до повећања броја болесника са негативним PCR налазом бактерија. Ово повећање је било статистички значајно код болесника који су лечени азитромицином. Код болесника са позитивним PCR налазом после терапије у случају смањене експресије једног или више испитиваних гена (који кодирају протеине HSP60, пролил-tPHK синтетазу, бакарпорфириноген III оксидазу, АТПазу која транспортује катјоне и компоненту честице која препознаје сигнал) постигнута је ремисија или побољшање у смислу да је олигоартритис прешао у моноартритис. Код свих болесника са позитивним PCR налазом и повећаном експресијом испитиваних гена није постигнута клиничка ремисија.

У поглављу **Дискусија**, кандидаткиња је детаљно и критички коментарисала добијене резултате у светлу постојећих литературних података и резултата студија о значају молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома, показавши сву своју зрелост и велико познавање проблематике коју је изабрала за своје изучавање. Брза идентификација патогених микроорганизама је од пресудне важности за правилну терапију као и за спречавање преношења инфекције на друге индивидуе. Посебно бисмо истакли да је у раду коришћена осетљива метода молекуларне детекције - PCR која је омогућила поуздану и објективну детекцију и идентификацију различитих микроорганизама чак и онда када су присутни у малом броју у зглобу. Такође бисмо истакли да су у раду коришћене и методе реверзна транскрипција-RT - и „*real-time*“ PCR будући да се конвенционалним PCR -ом детектују и мртви микроорганизми или само делови њиховог генома, а у процени тока болести и исхода лечења неопходно је дати одговор о томе да ли је бактерија жива.

У поглављу **Закључци**, кандидаткиња сумира добијене резултате из докторске дисертације. Рајтеров синдром је инфективне, а не само реактивне природе, а употреба молекуларних метода омогућава брзу и поуздану детекцију и идентификацију различитих микроорганизама „окидача“ што је веома важно за рану дијагнозу болести и избор терапије, док је детекција бактерија и утврђивање њихове вијабилности после терапије важно за процену њене ефикасности. Високи проценат позитивних налаза добијених PCR тестирањем узорка моноклеарних ћелија периферне крви (80%) пре терапије указују на могућност тестирања у узорцима који се добијају мање инвазивним захватом, док би се узорци синовије и синовијске течности користили само у случајевима када је налаз у моноклеарним ћелијама негативан.

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

1. **M22: Strelić N, Bojović J, Pavlica L, Cikota-Aleksić B, Miličić B, Magić Z.** Detection of bacteria and analysis of *Chlamydia trachomatis* viability in patients with postvenereal reactive arthritis. *Intern Med J* 2014; doi:10.1111/imj.12580 IF=1,699
2. **M23: Pavlica Lj, Nikolic D, Magic Z, Brajuskovic G, Strelac N, Milicic B, Jovelic A.** Successful treatment of postvenereal reactive arthritis with synovectomy and 3 months' azithromycin. *J Clin Rheumatol* 2005;11:257-63. IF=0,344

Б3. Конгресна саопштења на скуповима домаћег значаја **М64**

1. **Strelić N**, Bojović J, Pavlica Lj, Miličić B, Magić Z. Savremeni pristup u dijagnostici i terapiji Rajterovog sindroma uzrokovanog bakterijom *C. trachomatis*. Godišnji kongres reumatologa Srbije sa međunarodnim učešćem, 19-22.09.2012. godine, Subotica, Srbija, Zbornik abstrakata, p96
2. **Strelić N**, Pavlica Lj, Magić Z. PCR detection of genome of different microorganisms in synovia of patients with Reiter's syndrome treated with azithromycin, 3rd Congress of Serbian geneticists, Subotica, Serbia, November 30-December 4, 2004, Book of abstracts, p215

Strelić N, Pavlica Lj, Magić Z. Detection of *Chlamydia trachomatis* in clinical specimens of patients with Reiter's syndrome. 11th Congress of pathology of Serbia and Montenegro with international participation, Zlatibor, Serbia and Montenegro, May 23-26, 2004, Book of abstracts, p110

Мишљење и предлог Комисије:

Докторска теза мр Наташе Стрелић под насловом „Значај молекуларне детекције бактерија у процени ефикасности терапије Рајтеровог синдрома“ представља оригинални научни рад из области етиопатогенезе Рајтеровог синдрома и представља значајан допринос проучавања дате проблематике. Истраживање је спроведено у складу са свим принципима научноистраживачког рада и циљеви истраживања су остварени. Рад је написан јасно, систематично, студиозно и целовито, а добијени резултати имају клинички значај. Квалитет добијених резултата потврђен је и објављивањем у међународним часописима. Стога, чланови Комисије једногласно закључују да докторска дисертација мр Наташе Стрелић испуњава све предвиђене критеријуме и са великим задовољством предлажу Наставно-научном већу Биолошког факултета Универзитета у Београду да овај извештај прихвати и одобри јавну одбрану докторске дисертације.

У Београду, 27. 11. 2014.

КОМИСИЈА:

др Звонко Магић, редовни професор
Медицински факултет Војномедицинске академије,
Универзитет одбране у Београду

др Јелена Кнежевић-Вукчевић, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Бојана Цикота-Алексић, научни сарадник
Институт за медицинска истраживања,
Војномедицинска академија у Београду