

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU  
MEDICINSKOG FAKULTETA U NIŠU  
Odboru za doktorate**

**Predmet:** Stručna ocena i mišljenje o izrađenoj doktorskoj disertaciji dr Nele Živković

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, prihvaćen je izveštaj mentora prof. dr Borisa Đinđića o izrađenoj doktorskoj disertaciji dr Nele Živković iz Niša, pod odobrenim naslovom “Patofiziološki aspekti poremećaja metabolizma purina u reumatoidnom artritisu “ i imenovana je komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

- Prof. dr Vladmila Bojanić, predsednik, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Boris Đinđić, mentor i član, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Gordana Kocić, član, Medicinski fakultet Niš
- Prof. dr Snežana Živančević Simonović, član sa MF u Kragujevcu
- Doc. dr Sonja Stojanović, član, Medicinski fakultet Niš

U skladu sa ovom odlukom, komisija donosi sledeći

**REFERAT**

**Opšti podaci**

Kandidat dr Nela Živković, obavila je istraživanje na Klinici za reumatologiju Instituta za lečenje i rehabilitaciju Niška Banja. Biohemijska ispitivanja su realizovana u Institutu za biomedicinu i Institutu za biohemiju Medicinskog fakulteta u Nišu. Analiza dobijenih podataka urađena je na Institutu za patofiziologiju Medicinskog fakulteta u Nišu.

**Odnos uradjene disertacije prema prijavi i odobrenju teme**

Naslov i sadržaj urađene doktorske disertacije se u potpunosti podudaraju sa odobrenom temom. Odobreni cijevi i metodologija rada ostali su nepromenjeni.

**Tehnički opis disertacije**

Disertacija je napisana na 115 strana i sastoji se od: Naslovne strane, Sažetka, Uvoda, Cilja studije, Materijala i metoda rada, Rezultata ispitivanja, Diskusije, Zaključka, Literature i dva

priloga. Teza sadrži 10 slika i 1 shema, 31 tabela, 9 grafikona i 192 citata, mahom najnovije literature. Tekst je pisan u Microsoft Word 2010, font Times New Roman veličine 12 pt.

## **Karakteristike doktorske disertacije**

Doktorska disertacija dr Nele Živković pod naslovom “Patofiziološki aspekti poremećaja metabolizma purina u reumatoidnom artritisu “ je originalan i samostalan naučni rad iz oblasti patofiziologije, sa dobro postavljenim ciljevima, koji su u skladu sa zadatom temom. Disertacija obuhvata opširan prikaz najnovijih svetskih saznanja iz oblasti patofiziologije hroničnih inflamatornih autoimunih bolesti. U realizaciji istraživanja primenjivana je savremena i adekvatna metodologija. Rezultati su temeljno statistički obrađeni i dobro dokumentovani tabelama i grafikonima, a zaključci do kojih se došlo će doprineti boljem razumevanju enzima koji učestvuju u metabolizmu purina i njihovoj ulozi u nastanku i razvoju reumatoidnog artritisa, a samim tim i boljem razumevanju patofizioloških mehanizama ove bolesti. Metodologija je adekvatna i detaljno objašnjena tako da omogućava laku proverljivost i reproducibilnost istraživanja. U studiju je uključeno 160 pacijenata sa dijagnozom reumatoidnog artritisa i 60 pacijenata sa degenerativnim oštećenjem zglobova. Svima je urađen kompletan klinički pregled, radiološko ispitivanje, laboratorijska obrada sa posebnim osvrtom na enzime purinskog ciklusa: 5'-nukleotidaza, adenzin dezaminaza, AMP dezaminaza i ksantin oksidaza. Pacijenti sa reumatoidnim artritisom su podeljeni na dve podgrupe: rani i kasni (progresivni) reumatoidni arthritus pri čemu je iz podgrupe sa kasnim artritisom izdvojena grupa bolesnika koji su u periodu istraživanja bili na terapiji Metotreksatom. Metodologija istraživanja je detaljno opisana i zasnovana na savremenim naučnim principima i dosledno je sprovedena. Svi dobijeni podaci su sređeni i prikazani prema deskriptivnoj statističkoj metodologiji.

U **uvodnom delu** disertacije se iznose najnoviji podaci o patogenezi reumatoidnog artritisa i ulozi enzima purinskog metabolizma u patogenetskim procesima razvoja ove bolesti. Posebno se ističe uloga enzima purinskog ciklusa u inflamatornom procesu reumatoidnog artritisa.

**Cijevi istraživanja** su jasno definisani:

Imajući na umu značaj inflamacije u patogenezi reumatoidnog artritisa i ulogu enzima purinskog metabolizma u citokinskoj aktivnosti cilj rada je:

1. Ispitivanje aktivnosti enzima purinskog metabolizma kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom.
2. Ispitivanje povezanosti težine kliničkog ispoljavanja reumatoidnog artritisa sa aktivnošću enzima koji učestvuju u metabolizmu purina.
3. Ispitivanje povezanost stepena inflamacije sa poremećajima metabolizma purina.
4. Određivanje stepena inflamacije kod bolesnika sa reumatoidnim artritisom i njegova povezanost sa težinom kliničke slike.

U poglavlju **materijal i metode** opisana je institucija u kojoj je vršeno istraživanje, broj obrađenih bolesnika, podela i karakteristika grupa. Jasno su definisani kriterijumi za uključnje

u istraživanje. Dijagnoza reumatoidnog artritisa je postavljena prema klasifikaciji koja je detaljno opisana u metodologiji ovog istraživanja. Svi pacijenti su podeljeni na grupu sa reumatoidnim artritismom i grupu sa degenerativnim oboljenjem kičmenog stuba (kontrola). Bolesnici sa reumatoidnim artritismom su podeljeni na dve podgrupe bolesnika: sa ranim i kasnim reumatoidnim artritismom, a zatim je iz grupe sa kasnim reumatoidnim artritismom izvršena podela na bolesnike koji su lečeni metotreksatom i one koji nisu lečeni metotreksatom. Jasno su definisani kriterijumi za uključanje u kontrolnu grupu. Dat je detaljan opis dijagnostičkih procedura koje odgovaraju u potpunosti najsavremenijim standardima za postavljanje dijagnoze i praćenje progresije bolesti kod pacijenata sa reumatoidnim artritismom, kao i metode za ispitivanje enzima koji učestvuju u metabolizmu purina. Takođe, dat je pregled statističkih metoda i principa koji su korišćeni u analizi podataka.

**Rezultati** su prikazani tabelama i grafikonima. Aktivnost 5'-nukleotidaze i ksantin oksidaze su značajno različite u ispitivanim grupama bolesnika. Post Hoc analiza (Dunnett T3 test) je pokazala da je aktivnost 5'-NT najveća u grupi sa kasnim RA, dok se nije značajnije razlikovala između grupa sa ranim RA i kontrole ( $p < 0.01$ ). Aktivnost ksantin oksidaze je takođe najveća u grupi sa kasnim RA dok je u grupama sa ranim RA i kontroli bila približno slična ( $p < 0.01$ ). Vrednosti ADA su značajno različite u ispitivanim grupama bolesnika. Post Hoc analiza (Dunnett T3 test) je pokazala da su vrednosti ADA u kontroli značajno manje u odnosu na grupe bolesnika sa RA ( $p < 0.001$ ), pri čemu je i vrednost ADA u grupi sa kasnim RA značajno manja u odnosu na grupu sa ranim RA ( $p < 0.001$ ). Urađena analiza pokazala je da kontrolna grupa bolesnika ima značajno manju prosečnu vrednost VAS u odnosu na grupe bolesnika sa RA ( $p < 0.01$ ), ali i da između grupa bolesnika sa RA nema razlike u ovim vrednostima bez obzira na fazu bolesti. Funkcijska sposobnost merena indeksom HAQ se značajno razlikuje između svih ispitivanih grupa bolesnika. Najveća je kod bolesnika sa kasnim RA, a najmanju vrednost ima u kontrolnoj grupi. Učinjena analiza potvrdila je postojanje značajne razlike u distribuciji težine anatomskih stadijuma bolesti po Stenbrocker-u ( $Hi^2=38.4$ ,  $p < 0.01$ ) između grupa bolesnika sa RA. Lakši stadijumi su bili znatno češći nalaz kod bolesnika sa ranim RA, a teži stadijumi kod bolesnika sa kasnim RA. Aktivnost bolesti kod bolesnika sa kasnim RA, određena DAS28 skorom pokazuje slabu ali značajnu negativnu povezanost sa vrednostima AMP dezaminaze ( $C=-0.31$ ,  $r=-0.29$ ;  $p < 0.05$ ). Učinjena regresiona analiza pokazuje da porast aktivnost 5'-nukleotidaze ispoljava značajnu povezanost sa kasnim RA (OR=0.98 95%CI 0.97-0.99) dok je porast ADA aktivnosti povezan sa ranim RA. Kod bolesnika sa ranim RA postoji vrlo jaka i značajna inverzna korelacija vrednosti RF i aktivnosti AMP dezaminaze ( $C=-0.89$ ,  $p < 0.05$ ). Binarna logističkom regresijom nije prikazana značajnija povezanost brzine sedimentacije, koncentracije fibrinogena i broja leukocita sa fazom RA. Težina kliničke slike prikazana DAS28 skorom, zamorom, jutarnjom ukočenošću, brojem bolnih i otečenih zglobova pokazuje značajnu povezanost sa markerima inflamacije kod bolesnika sa kasnim RA. VAS bola pokazuje značajnu povezanost sa CRP, dok indeks HAQ pokazuje značajnu povezanost sa CRP i RF. Broj otečenih zglobova negativno korelira sa brzinom SE i brojem granulocita, dok broj bolnih zglobova pokazuje pozitivnu korelaciju sa vrednostima CRP i RF. Kod bolesnika sa ranim RA brzina sedimentacije i vrednosti CRP su pokazali jaku i značajnu pozitivnu povezanost sa aktivnošću bolesti merenom DAS28 skorom  $C=0.608$ . Težina kliničke slike prikazana zamorom, jutarnjom ukočenošću, brojem bolnih i otečenih zglobova pokazuje značajnu povezanost sa markerima inflamacije kod bolesnika sa ranim RA. Zamor negativno korelira sa brojem granulocita i RF faktorom. Jutarnja ukočenost je značajno povezana sa RF faktorom. Urađena binarna regresiona analiza pokazuje postojanje značajne veze između aktivnosti ADA i pojave RA. Prikazana je

veća aktivnost adenozin dezaminaze kod bolesnika sa kasnim RA koji nisu lečeni MTX-om u odnosu na bolesnike kasnog RA koji su lečeni MTX-om. Takođe, zabeležena je veća aktivnost ksantin oksidaze kod bolesnika sa kasnim RA koji nisu lečeni MTX-om.

**Diskusija rezultata** je u skladu sa metodologijom drugih studija koje ispituju povezanost metabolizma purina i patogeneze reumatoidnog artritisa. Doktorant je diskutovao rezultate svog istraživanja poredeći ih sa rezultatima savremenih studija.

Navedeni **zaključci** proističu iz rezultata rada i otvaraju nove perspektive u razumevanju patofiziološke uloge enzima koji učestvuju u metabolizmu purina za razvoj i kliničko ispoljavanje reumatoidnog artritisa.

Poslednje poglavje **literature** sadrži 192 reference, uglavnom novijeg datuma na engleskom govornom području.

### **Ocena naučnog doprinosa disertacije**

Doktorska disertacija pod nazivom “**Patofiziološki aspekti poremećaja metabolizma purina u reumatoidnom artritisu**“ predstavlja originalni i samostalni naučni rad iz oblasti patofiziologije hroničnih autoimunih inflamatornih bolesti sa aktuelnom i značajnom naučnom hipotezom iz koje slede adekvatni cijevi. Za proveru naučne hipoteze postavljenih ciljeva istraživanja korišćena je odgovarajuća savremena metodologija koja je detaljno opisana. Disertacija je napisana jasnim i preciznim stručnim jezikom, i omogućava sveobuhvatni pristup temi istraživanja. U diskusiji se jasno razmatraju rezultati novih studija iz oblasti patofiziologije reumatoidnog artritisa i uloge enzima purinskog ciklusa u nastanku i progresiji ovog oboljenja. Zaključci do kojih se došlo u ovom istraživanju su dragoceni i doprineće boljem razumevanju patofiziologije hroničnih autoimunih inflamatornih oboljenja.

### **Zaključak komisije**

Kandidat dr Nela Živković, autor doktorske disertacije pod nazivom “Patofiziološki aspekti poremećaja metabolizma purina u reumatoidnom artritisu “ iskazala je sposobnost za korišćenje metodologije naučnoistraživačkog rada i korišćenje najsavremenije literature. Svojim originalnim radom dala je doprinos boljem sagledavanju metaboličkih, imunoloških, inflamatornih i enzimskih poremećaja kod reumatoidnog artritisa, prvenstveno boljem razumevanju patofiziološke uloge enzima metabolizma purina i njihove povezanosti sa inflamacijom, u razvoju reumatoidnog artritisa.

Na osnovu navedenog, komisija za ocenu doktorske disertacije prihvata i pozitivno ocenjuje doktorsku disertaciju, te daje predlog Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta da prihvati urađenu disertaciju i donese odluku o njenoj odbrani.

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

---

**-Prof. dr Vladmila Bojanić, predsednik, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Gordana Kocić, član, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Boris Đinđić, mentor i član, Medicinski fakultet Niš**

---

**- Prof. dr Snežana Živančević Simonović, član sa MF u Kragujevcu**

---

**-Doc. dr Sonja Stojanović, član, Medicinski fakultet Niš**

## **Glavni naučni doprinos doktorske disertacije**

Originalan i jedinstven naučni rad, dobro koncipiran, sa jasno definisanim ciljevima i rezultatima od ogromnog značaja kako za naučnu javnost, tako i za kliničku praksu, prvenstveno kada je reč o razumevanju patofiziologije reumatoidnog artritisa i značaju enzima metabolizma purina u nastanku i razvoju ove bolesti. Rezultati ove studije će u velikoj meri pomoći da se razume otpočinjanje inflamatornog procesa u reumatoidnom artritisu i eventualnom otkrivanju novih biomarkera za rano postavljanje dijagnoze ove bolesti.

## **Main scientific contribution of the doctoral dissertation**

Original and unique scientific paper, well-conceived, with clearly defined aims and results of huge importance for academic community and clinical practice as well, especially for understanding pathophysiology of rheumatoid arthritis and importance of the enzyme pathways involved in purine metabolism and their role in origin and development of rheumatoid arthritis. Results of this study could greatly improve our understanding of beginning of the inflammatory process in rheumatoid arthritis and eventual discovery of new biomarkers for early diagnosis of this condition.

## **Mentor**

Prof. dr Boris Đinđić \_\_\_\_\_

## **Broj publikovanih radova:6**

### **Autorski radovi dr Nele Živković sa SCI liste iz teme doktorske disertacije**

Živković N, Đinđić B, Dimić A, Aleksandrić J, Milovanović S. "Importance of adenosine deaminase in rheumatoid arthritis diagnosis and therapeutic effect of applied methotrexate" HealthMED 2012; 6 (8): 2923-8.

Živković N, Đinđić B, Stojanović S, Krstić I, Ilić I, Kostić T, Kocić G. 5'-nucleotidase and Adenosine Deaminase in Patients with Rheumatoid Arthritis; Prihvaćen za štampu 20.05.2016. Vojnosanitetski pregled.