

NAUČNOG VEŠTAČENJE U MEDICINSKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Na sednici Naučnog veštanja od 7. marta 2016. godine određena je Komisija za ocenu završene doktorske disertacije kandidata mr sci med dr Mirjane Gaji -Velji , pod nazivom „**Antineutrofilna citoplazmatska antitela – značaj za dijagnozu i procenu aktivnosti sistemskog lupusa i lupusa indukovanog lekom**“. Mentor doktorske disertacije je prof. dr Miloš Nikolić , redovni profesor dermatovenerologije na Medicinskom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

Za članove Komisije za ocenu završene doktorske disertacije određeni su:

1. **Prof. dr Ljiljana Medenica**, redovni profesor dermatovenerologije, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
2. **Doc. dr Mirjana Šefik-Bukilica**, internista-reumatolog, Medicinski fakultet Univerziteta u Beogradu
3. **Prof. dr Dragan Jovanović** , redovni profesor dermatovenerologije, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Članovi Komisije su detaljno proučili ili priloženu disertaciju i podnose Naučnog veštanja u Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći:

IZVEŠTAJ

A) PRIKAZ SADRŽAJA DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija dr Mirjane Gaji -Velji , „**Antineutrofilna citoplazmatska antitela – značaj za dijagnozu i procenu aktivnosti sistemskog lupusa i lupusa indukovanog lekom**“ napisana je na 153 strane, sadrži 28 grafikona i 46 tabela. Doktorska disertacija je podeljena na sledeća poglavlja: Uvod, Ciljevi istraživanja, Pacijenti i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci, Literatura, Prilozi, Biografija kandidata. Na početku rada nalazi se sažetak teze na srpskom i engleskom jeziku, kao i lista ključnih reči i skraćenica.

Uvod (41 stranica) sadrži 7 potpoglavlja koja su napisana jasno i koncizno. Prikazana je definicija i uloga imunskog odgovora, neutrofila, neutrofilnih granula i neutrofilnih

ekstracelularnih zamki u nastanku autoimunskih bolesti, pre svega sistemskog lupus erythematosus-a (SLE). Prikazan je i kratak istorijat i definicija lupus erythematosusa (LE), patogeneza, kliničke karakteristike i kriterijumi za dijagnozu i parametri za procenu aktivnosti SLE. Dat je koncizan prikaz savremenih stavova o patogenezi SLE sa akcentom na ulogu antineutrofilnih citoplazmatskih antitela (ANCA) i enzima dezoksiribonukleaze I (DNaze I) u patogenezi SLE. Potom, prikazan je istorijat, epidemiološki podaci, patogeneza, klasifikacija i klinička slika lekom indukovano lupus-like sindroma (LLS), sa posebnim osvrtom na LLS indukovano propiltiouracilom (PTU).

Na kraju uvoda postavljene su **radne hipoteze**: a) da ANCA pozitivni pacijenti u odnosu na ANCA negativne pacijente imaju težu kliničku formu SLE; b) da su polispecifični na ANCA, posebno anti-mijeloperoksidaza i anti-laktoferin ANCA serološki markeri aktivnog SLE i LLS indukovano PTU; c) da pacijenti sa sniženom aktivnošću DNaze I imaju veće ANCA nivo prisustvo i koncentracija koreliraju sa imunoserološkim markerima aktivnosti SLE; d) da pacijenti sa PTU-indukovanim ANCA pozitivnim LLS imaju sniženu aktivnost DNaze I u serumu.

Ciljevi istraživanja (1 stranica) su bili: 1) ispitati uestalost i profil ANCA (mijeloperoksidaza-MPO, proteinaza 3-PR3, elastaza-El, laktoferin-Lf, *engl.* bactericidal/permeability increasing protein – BPI, katepsin G-CatG) kod SLE i lekom indukovano LLS (LILLS); 2) ispitati kliničke i imunoserološke razlike između ANCA pozitivnih pacijenata sa SLE i LILLS, i između ANCA pozitivnih i ANCA negativnih pacijenata sa SLE; 3) ispitati udruženost prisustva i koncentracije određenog tipa ANCA sa kliničkim i serološkim manifestacijama SLE i LILLS; 4) utvrditi da li postoji korelacija između koncentracije ANCA sa imunoserološkim (komponente komplekta, antitrombocitna antitela) i kliničkim parametrima aktivnosti SLE i LILLS; 5) utvrditi odnos između aktivnosti DNaze I u serumu, ANCA i kliničkih parametara SLE i LILLS.

Pacijenti i metode (8 stranica) sadrži tri dela: selekcija ispitanika, instrumenti merenja i statistička analiza. Ispitivanje je sprovedeno kao retrospektivna studija koja je obuhvatila pacijente sa SLE i LLS indukovanim PTU dijagnostikovane i lečene u Kliničkom centru Srbije - KCS (Klinika za dermatovenerologiju, Klinika za nefrologiju, Klinika za alergologiju i imunologiju i Klinika za endokrinologiju) od januara 2008. do septembra 2015. godine. Metodološki jasno i precizno su definisani kriterijumi na osnovu kojih je u studiju uključeno 159 pacijenata. Studija je izvedena u skladu sa pravilima Helsinške

deklaracije i odobrena je od strane Eti kog odbora Klini kog centra Srbije i Eti kog komiteta Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

Kod pacijenata sa SLE kod kojih je dijagnoza postavljena na osnovu ACR kriterijuma (American College of Rheumatology criteria), kao i kod pacijenata sa ANCA-udruženim PTU-indukovanim LLS kod kojih je dijagnoza LILLS postavljena na osnovu prosustva SLE kriterijuma koji su povezani sa uzimanjem PTU i koji su se povukli nakon obustavljanja leka, sa ili bez upotrebe imunosupresivne terapije, ura ene su slede e analize: ANCA profil (detektovana su humana autoantitela (ANCA) klase IgG prema šest razli itih antigena, odnosno neutrofilnih proteina: MPO, PR3, El, Lf, Cat-G i BPI, upotrebom semikvantitativnog *in vitro* ELISA testa); ostali imunoserološki parametri (odre ivanje koncentracije komponenti komplekta (C3 i C4), odre ivanje prisustva i koncentracije ANA, anti-dsDNK, anti-ENA, anti-nukleozomalnih, anti-histonskih, anti-C1q, antikardiolipinskih antitela); aktivnost DNaze I u serumu (ELISA metodom); klini ki indeks aktivnosti bolesti (SLEDAI-2K).

U ovom radu su koriš ene metode deskriptivne i inferencijalne statistike. Statisti ke metode koriš ene za povezane i nezavisne uzorke su: χ^2 -test, Fisher-ov test ta ne verovatno e, McNemar test, Mann-Whitney U-test, Wilcoxon test ekvivalentnih parova, Kruskal-Wallis test i t-test). Distribucija vrednosti proverena je upotrebom Shapiro-Wilk testa. Za pore enje aktivnosti DNaze I u serumu SLE pacijenata, LLS pacijenata u aktivnoj fazi i zdravih osoba u kontrolnoj grupi, koriš ena je jednosmerna analiza varijanse (ANOVA). Za pore enje aktivnosti serumske DNaze I izme u dve grupe LLS pacijenata (u aktivnoj fazi i remisiji) i kontrolnoj grupi, primenjen je Kruskal-Wallis test sa naknadnim pore enjem parova pomo u Mann-Whitney U-testa. Mogu a povezanost, odnosno stepen povezanosti dva parametra izra unat je pomo u koeficijenta korelacije (Pearson-ov koeficijent korelacije i Spearman-ov koeficijent korelacije). Statisti ka zna ajnost koeficijenta korelacije testirana je t-testom. Ja ina povezanosti je odre ena na osnovu vrednosti koeficijenta korelacije. Podaci su prikazani tabelarno i grafi ki. Vrednosti verovatno e (p) manje od 0.05 smatrane su statisti ki zna ajnim, dok su p-vrednosti manje od 0.01 smatrane visoko statisti ki zna ajnim. Statisti ka analiza ura ena je upotrebom licenciranog softverskog paketa SPSS (engl. Statistical Package for Social Sciences) za Windows, verzija 20.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA).

Rezultati (55 stranica) prikazuju sve nalaze dobijene ovim istraživanjem kroz 28 grafikona i 46 tabela, uz potrebna objašnjenja u pratećem tekstu. Rezultati su prikazani u četiri dela. U prvom delu prikazani su demografski podaci, klinički i imunoserološki parametri pacijenata sa idiopatskim SLE i lekom indukovanim LLS. U drugom delu prikazani su demografski podaci, klinički i imunoserološki parametri pacijenata sa idiopatskim SLE i poređenje ovih parametara između ANCA pozitivnih i ANCA negativnih SLE pacijenata. U ovom poglavlju su prikazane i razlike između novonastalih i prethodno lečenih SLE pacijenata, kao i između anti-MPO, anti-El i anti-Lf pozitivnih i negativnih SLE pacijenata, zatim imunoserološki parametri i ANCA profil u odnosu na stepen težine glomerulonefritisa, potom imunoserološki parametri i ANCA profil kod 25 ANCA pozitivnih SLE pacijenata u pratećem delu, i korelacija imunoseroloških parametara i stepena aktivnosti bolesti. U trećem delu prikazano je poređenje kliničkih i imunoseroloških karakteristika ANCA pozitivnih pacijenata sa SLE i LLS indukovanim lekom, poređenje imunoseroloških parametara aktivnog PTU-indukovanog LLS i LLS u remisiji, kao i senzitivnost, specifičnost, pozitivna i negativna prediktivna vrednost ANCA. U četvrtom delu prikazana je aktivnost DNaze I u serumu pacijenata sa SLE i PTU-indukovanim LLS.

U poglavlju **Diskusija** (18 stranica) detaljno su analizirani dobijeni rezultati istraživanja, redosledom kojim su prikazani u prethodnom poglavlju. Svi rezultati istraživanja su poređeni sa podacima iz literature, uz tumačenje njihovih značenja i razlika.

Zaključci (2 stranice) su u formi jasno definisanih konstatacija, redosledom koji odgovara postavljenim ciljevima.

Literatura (25 stranica) sadrži 279 bibliografskih jedinica iz referentnih međunarodnih i domaćih časopisa, udžbenika, pretežno novijeg datuma.

Prilozi (2 stranice) sadrži 1 prilog u kojem je detaljno objašnjen način izračunavanja skora aktivnosti SLE – SLEDAI-2K.

Biografija kandidata (1 stranica).

B) OPIS POSTIGNUTIH REZULTATA

U ovoj studiji je ustanovljeno da su ANCA prisutna kod 28% pacijenata sa SLE i kod 100% pacijenata sa LLS izazvanim propiltiourcilom. Utvrđeno je da pacijenti sa LLS izazvanim PTU znatno češće imaju kutani vaskulitis, a znatno ređe artritis i zahvaćenost

bubrega u odnosu na pacijente sa SLE. Zatim, da pacijenti sa ANCA pozitivnim SLE eš e imaju autoimunski hepatitis i neurološke/psihijatrijske manifestacije, a zna ajno re e kutane manifestacije u odnosu na ANCA negativne pacijente sa SLE. U estalost hematoloških, nefroloških i artikularnih manifestacija, kao i polioserozitisa, ne razlikuje se kod ANCA pozitivnih i ANCA negativnih pacijenata sa SLE. Pokazano je da su ANCA kod pacijenata sa SLE monospecifi na, i to naj eš e anti-Lf, anti-MPO ili anti-El, da anti-Lf kod pacijenata sa SLE nisu udružena sa prisustvom anti-MPO i anti-El. Suprotno u odnosu na SLE, ustanovljeno je da su ANCA kod pacijenata sa LLS indukovanim PTU polispecifi na, i to naj eš e na MPO, El i PR3. Na ena je pozitivna korelacija izme u anti-Lf kod pacijenata sa SLE i titra anti-dsDNK antitela i indeksa aktivnosti bolesti (SLEDAI-2K), a negativna korelacija sa koncentracijom C3 i C4 komponenti komplemeta. Utvr eno je da su anti-Lf eš e prisutna kod pacijenata sa bubrežnim manifestacijama i poliserozitisom, anti-MPO kod pacijenata sa atralgijama, a anti-El sa autoimunskim hepatitisom. Pacijenti sa težom formom GN eš e su imali ANCA, i to monospecifi na anti-Lf, dok su pacijenti sa lakšim formama GN eš e imali anti-MPO antitela.

U studiji je pokazano da je aktivnost DNaze I kod LILLS zna ajno niža nego kod SLE pacijenata i zdravih osoba, da prekid PTU terapije dovodi do porasta aktivnosti DNaze I, mada aktivnost DNaze I ne dostiže nivo aktivnosti zdravih kontrola. U remisiji LLS indukovanog PTU, koncentracija anti-MPO opada, ali anti-MPO pozitivnost perzistira dugo vremena.

C) UPOREDNA ANALIZA DOBIJENIH NALAZA SA REZULTATIMA IZ LITERATURE

Rezultati istraživanja su sistemati no, redosledom kojim su prikazani, upore ivani sa rezultatima drugih autora u poglavlju diskusija.

Rezultati studije potvrdili su da me u specifi ne antigene na koje se stvaraju ANCA, a koja su detektovana ELISA tehnikom kod pacijenata sa idiopatskim SLE, spadaju MPO, El, Lf, PR3, BPI, i to naj eš e anti-Lf (228). Prevalencija ANCA kod pacijenata sa SLE se kre e od 16.4 do 37.3% (228, 238). Pojedini autori koji su detektovali ANCA u serumu SLE pacijenata, nisu našli korelaciju izme u prisustva ANCA i SLEDAI skora, kao ni izme u ANCA i odre enih klini kih manifestacija (229, 230, 234, 236). Me utim, druga grupa autora je ustanovila korelaciju sa odre enim klini kim manifestacijama i aktvnoš u bolesti

(228, 232, 233, 239, 238). U sprovedenim studijama, u pore enju sa ANCA negativnim pacijentima, ANCA pozitivni imaju ve u incidenciju serozitisa, akutne renalne insuficijencije, neuroloških i psihijatrijskih manifestacija i artritisa. Zna ajna razlika izme u ove dve grupe pacijenata na ena je i u broju dijagnosti kih kriterijuma, indeksu aktivnosti bolesti i odre enim serološkim parametrima (228, 237). ANCA pozitivnost je bila ve a kod pacijenata sa lupus nefritisom u pore enju sa SLE pacijentima bez nefritisa (238, 239). Yu i sar. su utvrdili da je ve ina ANCA pozitivnih pacijenata imala tip IV lupus nefritisa sa višom stopom mortaliteta u odnosu na ANCA negativne pacijente i sa eš om detekcijom anti-dsDNA antitela (237). Incidencija zahva enosti CNS-a, bubrega i serozitisa u grupi ANCA pozitivnih pacijenata bila je zna ajno viša u odnosu na ANCA negativne SLE pacijente (239). Tako e, pozitivna anti-dsDNK i anti-Sm antitela, kao i snižene vrednosti C3 i C4, zna ajno eš e su detektovani kod ANCA pozitivnih nego kod ANCA negativnih SLE pacijenata (239), što se objašnjeno injenicom da istovremeno sa produkcijom anti-hromatinskih antitela dolazi do stvaranja ANCA nakon osloba anja NETs.

U ovoj studiji koja je obuhvatila 142 pacijenta sa idiopatskim SLE, ANCA pozitivnih je bilo 28.2%, ANCA negativnih 71.8%. Pacijenti sa ANCA pozitivnim SLE su visoko statisti ki zna ajno eš e imali neurološke i psihijatrijske manifestacije i autoimunski hepatitis, a zna ajno re e zahva enost kože. Zglobovi i serozne opne su bili podjednako zahva eni, a hematološki poreme aji podjednako prisutni kod pacijenata sa ANCA pozitivnim i ANCA negativnim SLE. Tako e, nije bilo statisti ki zna ajne razlike u broju pacijenata sa zahva enim bubrezima, mada su pacijenti sa težom formom GN eš e imali pozitivna ANCA, monospecifi na ANCA i anti-Lf, dok su oni sa lakšim formama eš e imali pozitivna anti-MPO.

U objavljenim studijama frekfencija anti-MPO antitela kod pacijenata sa SLE kretala se od 0 do 54.5% (230, 238), dok se prevalencija anti-Lf kretala od 8.4% do 62% (228, 230, 231, 233, 241, 242, 243). I u ovoj studiji, naj eš e detektovana antitela bila su anti-Lf i anti-MPO. Prevalencija anti-Lf bila je 14.8% od ukpnog broja SLE pacijenata i ak 52.5% ANCA pozitivnih pacijenata, , anti-MPO 13.4% i anti-El 4.2%. Tako e, za razliku od nekoliko studija u kojima se prevalencija anti-Cat-G kretala od 12% do 62.1% (Spronk, Pradhan, Zhao), u našoj studiji nije bilo pacijenata sa pozitivnim anti-Cat-G antitelima. Prema rezultatima brojnih studija vidi se da nema saglasnosti u vezi sa udruženoš u anti-Lf i aktivnosti bolesti, odnosno odre enih klini kih manifestacija. U pojedinim studijama u kojima je prevalencija anti-Lf bila visoka, nije bilo korelacije ANCA sa zahva enoš u organa, kao ni sa stepenom aktivnosti bolesti (230). Drugi autori koji su detektovali visok

procenat pacijenata sa anti-Lf (55% do 62%) ustanovili su da su IgG anti-Lf antitela u srednjoj i visokoj koncentraciji bila u korelaciji sa aktivnoš u bolesti, anti-dsDNK antitelima i anti-kardiolipinskim antitelima. Tako e, ova antitela su bila povezana sa odre enim klini kim manifestacijama kao što su zahva enost kože i serozitis, a u srednjoj/visokoj koncentraciji sa zahvatanjem bubrega i serozitisom (244). Drugi autori nisu našli povezanost anti-Lf i anti-MPO sa odre enim klini kim manifestacijama, ali su za anti-Lf, ne i za anti-MPO, našli statisti ku povezanost sa indeksom aktivnosti bolesti (245).

U studiji dr Mirjane Gajić-Veljić, kod anti-Lf pozitivnih pacijenata eš e je postojala zahva enost bubrega i poliserozitis, dok su anti-Lf negativni pacijenti eš e imali kutane promene, atralgije i sinovitis. Za razliku od anti-MPO pozitivnih SLE pacijenata, više anti-Lf pozitivnih SLE pacijenata (61.9%) je imalo GN u odnosu na anti-Lf negativne SLE pacijente (42.1%). Tako e, anti-Lf pozitivni pacijenti su zna ajno eš e imali anti-dsDNK antitela i pad C3 i C4 komponenti komplementa. Anti-Lf negativni pacijenti su visoko statisti ki zna ajno eš e imali pozitivna anti-MPO i anti-El. Ustanovljena je jaka pozitivna povezanost izme u anti-Lf antitela i titra anti-dsDNK, kao i anti-Lf i indeksa aktivnosti bolesti, a negativna povezanost sa sa koncentracijom C3 i C4. Statisti ka zna ajnost je na ena i u pra enju ANCA pozitivnosti kod pacijenata sa anti-Lf antitelima. Kada su u pitanju druga ANCA, iako se posle perioda pra enja pove ao broj ANCA negativnih pacijenata i broj pacijenata sa slabom reaktivnoš u, nije bilo statisti ke zna ajnosti izme u dve grupe pacijenata. Ovo se slaže sa rezultatima Caccava i sar. koji su detektovali anti-Lf u srednjim i visokim koncentracijama, i to zna ajno udružena sa anti-dsDNK (244).

Anti-MPO pozitivni SLE pacijenti eš e su imali sinovitis i citopeniju, a statisti ki zna ajno eš e artralgije, dok su re e imali kutane promene i bubrežnu zahva enost u odnosu na anti-MPO negativne pacijente. Anti-MPO negativni pacijenti su statisti ki zna ajno eš e imali anti-dsDNK, nizak C3 i C4, anti-ENA i anti-C1q antitela. Iz naših rezultata se može zaklju iti da anti-MPO imaju izvesnu „zaštitnu ulogu“ u smislu razvoja teže forme bolesti, a da anti-MPO i anti-El autoantitela imaju „zaštitnu ulogu“ u smislu razvoja GN, za razliku od anti-Lf. Suprotno ovome, specifi an profil anti-MPO antitela kod pacijenata sa idiopatskim SLE dovodi do gubitka kataliti ke aktivnosti MPO, što korelira sa lakšom klini kom slikom. Kod ANCA pozitivnih pacijenata u ovoj studiji ustanovljena je negativna korelacija izme u indeksa anti-MPO i SLEDAI-2K skora, što potvr uje prethodni nalaz da pacijenti sa anti-MPO antitelima imaju manju aktivnost bolesti.

Prolongirana primena PTU, može indukovati ANCA-udružen vaskulitis i LLS (211). U ovoj studiji, za razliku od anti-MPO i anti-El, veći broj pacijenata sa LLS indukovanim PTU je bio anti-Lf negativan. Svi LILLS pacijenti su imali anti-MPO, za razliku od 52.5% SLE pacijenata koji nisu imali anti-MPO antitela. Kliničke i serološke manifestacije idiopatskog SLE i PTU-indukovanog LLS često se preklapaju. Iako je diferencijalna dijagnoza ponekad teška, u ovoj studiji, u grupi LLS pacijenata nije bilo neuroloških i psihijatrijskih manifestacija, bubrežne zahvaćenosti i poliserozitisa, za razliku od idiopatskog SLE. Takođe, potvrđena su i ranija saznanja da kutane manifestacije mogu pomoći u ranoj dijagnozi LLS (174, 175, 181). Malarni raš, diskoidne promene, lezije karakteristične za subakutni kutani LE i oralne ulceracije bile su prisutne kod pacijenata sa SLE. S druge strane, urticaria-like vaskulitis, purpura i kutane ulceracije su mnogo češće kod PTU-indukovanog LLS (174), što je potvrđeno i ovom studijom.

Tipičan laboratorijski profil kod LLS indukovanoj lekom uključuje pozitivna ANA sa homogenim tipom fluorescencije i anti-histonska antitela, dok su anti-dsDNK i anti-ENA antitela obično odsutna (201). Pacijenti u ovoj studiji su znatno češće imali anti-dsDNK, anti-ENA, anti-histonska, anti-nukleozomalna i anti-C1q antitela.

Našom studijom ustanovljena je značajno veća prevalencija IgG ANCA kod PTU-indukovanog LLS (100%) u poređenju sa SLE (28.2%). Svi naši pacijenti sa PTU-indukovanim LLS bili su ANCA pozitivni i oni su znatno češće imali polispecifična ANCA, za razliku od idiopatskog SLE kod koga su dominirala monospecifična ANCA. Najčešći target antigeni kod LLS pacijenata bili su MPO, El i PR3. Kao što je u ranijim radovima prikazano (180, 181), anti-MPO je najsenzitivniji dijagnostički marker za LLS indukovanoj PTU. Za razliku od tipičnog serološkog profila LLS indukovanoj lekom, autori ove studije ustanovili su da ANCA imaju značajno veću senzitivnost nego anti-histonska antitela za PTU-indukovanoj LLS. U odnosu na druge lekove, PTU retko indukuje anti-histonska antitela (179). Podaci iz literature kažu da ukoliko se LLS indukovanoj lekom dijagnostikuje na vreme, ima blaži tok i obično ne zahteva citotoksičnu terapiju (175). Kod pacijenata u ovoj studiji sve kliničke manifestacije su se povukle nakon prekida PTU terapije. Za razliku od drugih seroloških markera, svi LLS pacijenti, i pored kliničke remisije, zadržali su ANCA pozitivnost. Visoka koncentracija anti-MPO može perzistirati mesecima, čak i godinama posle obustavljanja terapije (180).

Na kraju, u radu su naglašeni i rezultati o aktivnosti DNaze I i njihovom odnosu sa ANCA, SLE i LLS indukovanim PTU, ime se nisu bavili drugi radovi i koji se ne mogu naći u literaturi. Autori ove studije su pokazali da je aktivnost DNaze I bila značajno niža u serumu pacijenata sa PTU-indukovanim LLS nego u serumu SLE pacijenata i zdravih osoba. Postoje različiti rezultati o korelaciji između aktivnosti DNaze I i aktivnosti SLE (65, 81, 83). Niska aktivnost DNaze I može da dovede do perzistiranja NETs, što posledično utiče na indukciju polispecifičnih ANCA kod pacijenata sa PTU-indukovanim LLS. Prema tome, NETs mogu indukovati proizvodnju ANCA i mogu aktivirati komplement. Takođe, ANCA mogu stimulisati NETozu, produkciju kiseoniknih radikala i proinflamatornih citokina, koji zatim dovode do prekomernog autoimunskog odgovora (41). Dr Gajić-Veljić i saradnici su otkrili da pad aktivnosti DNaze I nije konstantna karakteristika jednog pacijenta, već da se može menjati sa aktivnošću u bolesti. Prekid PTU terapije kod naših LLS pacijenata doveo je do porasta aktivnosti DNaze I, ali aktivnost DNaze I nije dostigla nivo aktivnosti kod zdravih osoba i pacijenata sa drugim PTU koji nisu imali LLS. Međutim, obustavljanje PTU dovodi do pada titra ANCA, prekida NEToze, inflamacije i redukcije inhibicije DNaze I posredovane G-aktinom (276). Ovo je potvrđeno i sadašnjom studijom u kojoj je u grupi LLS pacijenata, po prekidu PTU terapije došlo je do pada titra ANCA. Svi ovi faktori mogu objasniti uopšteno porast aktivnosti DNaze I kod LLS pacijenata posle isključenja PTU. Za razliku od pacijenata sa PTU-indukovanim LLS, pacijenti koji su ležali ovim lekom, ali nisu razvili LLS, imali su veći nivo aktivnosti DNaze I, što omogućava adekvatno uklanjanje PTU-indukovanih NETs. Visoka bazalna aktivnost DNaze I može zaštititi pacijente od indukcije AAD.

D) OBJAVLJENI ILI SAOPŠTENI REZULTATI KOJI ČINE DEO TEZE

Rad u časopisu indeksiranom u Current Contents-u (CC) i Science Citation Index-u (SCI):

Gajić-Veljić M, Bonaci-Nikolic B, Lekic B, Skiljevic D, Ciric J, Zoric S, Stojimirovic B, Nikolic M. Importance of low serum DNase I activity and polyspecific anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in propylthiouracil-induced lupus-like syndrome. *Rheumatology (Oxford)* 2015;54:2061-70. **M21, IF 4.475**

E) ZAKLJUČAK

Doktorska disertacija pod nazivom „**Antineutrofilna citoplazmatska antitela – značaj za dijagnozu i procenu aktivnosti sistemskog lupusa i lupusa indukovanog lekom**“ kandidata mr sci med dr Mirjane Gaji -Velji je aktuelna, značajna i predstavlja originalan naučni doprinos u istraživanjima koja se odnose na potencijalne nove biomarkere sistemskog lupusa i lupusa indukovanog lekom i ulogu ANCA u patogenezi, razvoju kliničkih manifestacija SLE i aktivnosti bolesti.

Na osnovu dobijenih rezultata može se konstatovati da detekcija prisustva i specifičnost ANCA pomažu u dijagnostici imunoseroloških i kliničkih fenotipova pacijenata sa SLE, kao i da su niska aktivnost DNaze I i prisustvo polispecifičnih ANCA prognostički biomarkeri za LLS indukovan PTU.

Na osnovu navedenih podataka, Komisija smatra da doktorska disertacija predstavlja originalni naučni doprinos i predlaže Naučnom vešću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati disertaciju mr sci med dr Mirjane Gaji -Velji pod naslovom „**Antineutrofilna citoplazmatska antitela – značaj za dijagnozu i procenu aktivnosti sistemskog lupusa i lupusa indukovanog lekom**“ i odobri njenu javnu odbranu.

Beograd, 14. april 2016. godine

Članovi komisije:

Mentor: Prof. dr Miloš Nikoli

Prof. dr Ljiljana Medenica

Doc. dr Mirjana Šefik - Bukilica

Prof. dr Dragan Jovanovi