

**NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU  
MEDICINSKOG FAKULTETA U NIŠU**

**Odboru za doktorate**

**Predmet:** Stručna ocena i mišljenje o izrađenoj doktorskoj disertaciji dr Predraga Janoševića

Odlukom Nastavno-naučnog veća Medicinskog fakulteta u Nišu, prihvaćen je Izveštaj mentora prof. dr Ivane Stojanović o izrađenoj doktorskoj disertaciji dr Predraga Janoševića, pod naslovom „**Uticaj terapije fiksnim ortodontskim aparatima na parodontcijum i dijagnostički potencijal biohemijskih parametara zapaljenja**“ i imenovana je Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

- Doc. dr Gordana Filipović, predsednik, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu
- Prof. dr Ivana Stojanović, mentor i član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu
- Prof. dr Mirjana Šašić, član, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu
- Prof. dr Stevo Najman, član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu
- Prof. dr Ljiljana Kesić, član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu

Na osnovu pregleda doktorske disertacije Komisija donosi sledeći

**I Z V E Š T A J**

Tema doktorske disertacije asistenta dr Predraga Janoševića, specijaliste ortopedije vilica, je odobrena odlukom Nastavno-naučnog veća broj 04-KS-9/10, na osnovu saglasnosti Univerziteta u Nišu od 6.5.2014. god. Istraživanje je obavljeno na Klinici za stomatologiju i Naučno-istraživačkom centru za biomedicine Medicinskog fakulteta u Nišu.

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

Doktorska teza „Uticaj terapije fiksnim ortodontskim aparatima na parodontcijum i dijagnostički potencijal biohemijskih parametara zapaljenja“ je originalan naučno-istraživački rad iz oblasti ortopedije vilica. Naslov i sadržaj uradene doktorske disertacije su u potpunosti saglasni sa odobrenom temom i sadržajem sprovedenog istraživanja. Odobreni ciljevi i metodologija rada ostali su nepromenjeni.

**Tehnički opis disertacije**

Disertacija je napisana na 119 strana, sadrži 15 tabela, 12 grafikona i 29 slika. Sastoji se od poglavlja Uvod, Ciljevi istraživanja, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključci i

Literatura. Rezultati su prikazani tabelarno i grafički. Tekst je pisan u Microsoft Word-u, font Time New Roman veličine 12 pt.

### **Karakteristike doktorske disertacije**

**Uvod.** U uvodnom delu disertacije se ukazuje na potencijalne rizike primene terapije fiksnim ortodontskim aparatima u odnosu na parodontcijum. Ukazuje se na etiološke, patogenetske i dijagnostičke karakteristike gingivo-parodontalne bolesti, sa posebnim osvrtom na dijagnostički i prognostički značaj biohemijskih parametara zapaljenja. Poseban deo istraživanja je posvećen ispitivanju toksičnog efekta ortodontskih materijala za lepljenje bravica na kulture makrofaga i fibroblasta.

**Ciljevi istraživanja.** Cilj istraživanja je praćenje zapaljenjskog stanja gingive i parodontcijuma u prvih 6 meseci ortodontske terapije na osnovu određivanja kliničkih (PI, SBI i CPITN) i biohemijskih parametara ( $\text{NO}_2+\text{NO}_3$ , RANKL i TNF- $\alpha$ ) u pljuvački i GST i njihovih međusobnih korelacija pre početka, 3 i 6 meseci nakon početka terapije. Cilj je i utvrđivanje uticaja auto i svetlosno polimerizujućih materijala za lepljenje bravica na kulture mišjih fibroblasta i makrofaga.

**Ispitanici i metodologija.** U ovom poglavlju su jasno definisani kriterijumi za uključivanje i isključivanje ortodontskih pacijenata iz studije i dat je detaljan opis upotrebene metodologije. Prospektivnim istraživanjem je obuhvaćeno 30 ortodontskih pacijenata Klinike za stomatologiju u Nišu. Pacijenti su sami sebi služili kao kontrola, obzirom da su mereni klinički parametri i uzorkovani pljuvačka i GST neposredno pre početka terapije, a zatim 3 i 6 meseci nakon početka terapije. Po prijemu pacijenta, nakon uzimanja anamnestičkih podataka i fizičkog pregleda, rađeno je uzimanje otisaka, izrada i analiza studijskih modela, a zatim analiza ortopana i telerendgena. Nakon odabira i uključivanja pacijenata u istraživanje određivani su klinički parametri stanja parodontcijuma PI, SBI i CPITN i uzorkovani su pljuvačka i GST u cilju daljih biohemijskih analize, pre početka terapije, 3 i 6 meseci nakon početka terapije na redovnim kontrolnim pregledima.

*In vitro* efekat ekstrakata AP i SP materijala za lepljenje bravica ispitivan je na L929 i RAW 264.7 ćelijskoj liniji. Ćelijska linija L929 je uzeta za ispitivanje uticaja ekstrakata materijala na vijabilnost i proliferaciju, a ćelijska linija RAW 264.7 makrofaga je uzeta za test fagocitoze ispitivanih materijala.

Rezultati sprovedene studije su prikazani tabelama i grafikonima. Vrednosti ispitivanih parametara su predstavljene srednjim vrednostima (X), standardnim devijacijama (SD), intervalima poverenja od 95% (95% CI), medijanama (Me) i interkvartalnih opsega (IQR). Međusobna povezanost ispitivanih parametara analizirana je uz korišćenje odgovarajućih testova u programu SPSS v. 15.0, pri čemu je nivo značajnosti bio  $p < 0,05$ .

**Rezultati.** U pogledu ispitivanja uticaja terapije fiksnim ortodontskim aparatima na parodontcijum, uočen je statistički značajan porast vrednosti svih praćenih kliničkih parametara

3 i 6 meseci nakon početka u poređenju sa vrednostima pre početka terapije, što ukazuje na pojavu i pogoršanje zapaljenja gingive.

Postoji statistički značajan porast koncentracija  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u GST i pljuvački 3 i 6 meseci nakon početka ortodontske terapije u poređenju sa vrednostima pre početka terapije i statistički značajan porast vrednosti koncentracija RANKL u GST 3 i 6 meseci nakon početka ortodontske terapije u poređenju sa vrednostima pre početka terapije. Nije dokazan statistički značajan porast koncentracija  $\text{TNF-}\alpha$  3 i 6 meseci nakon početka ortodontske terapije, a vrednosti nakon 6-tog meseca su niže u odnosu na vrednosti dobijene 3 meseca nakon početka terapije. Kod 8 od 30 praćenih pacijenata nije zabeležen bilo kakav porast vrednosti PI u toku prvih 6 meseci terapije, ali je zabeležen statistički značajan porast vrednosti SBI, CPITN, kao i koncentracije  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  i RANKL u GST i  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u pljuvački. Ovo ukazuje da na zapaljensko stanje gingive kod ortodontskih pacijenata pored prisustva dentalnog plaka utiču i drugi faktori.

U svim ispitivanim periodima postoji statistički značajna pozitivna korelacija vrednosti kliničkih parametara gingive (PI i SBI), koja je pre početka i 3 meseca nakon početka terapije na nivou statističke značajnosti od  $p<0,05$ , a 6 meseci nakon početka terapije još veće statističke značajnosti ( $p<0,01$ ). Postoje pozitivne statistički značajne korelacije PI i CPITN srednjeg intenziteta pre početka terapije ( $p<0,05$ ), velikog intenziteta 3 meseca ( $p<0,01$ ), kao i 6 meseci nakon početka terapije ( $p<0,001$ ). Postoje visoke, pozitivne statistički značajne korelacije SBI i CPITN pre početka, 3 i 6 meseci nakon početka terapije ( $p<0,001$ )

Statistički značajne, pozitivne i veoma izražene korelacije utvrđene su i između koncentracije  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u GST i u pljuvački 3 meseca nakon početka terapije,  $p<0,01$  pre početka terapije, a čak  $p<0,001$ , 6 meseci nakon početka terapije. Koncentracije  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  statistički značajno i negativno korelišu sa PI i SBI, ( $p<0,05$ ). Korelacije RANKL sa svim parametrima su minimalne. Najizraženija korelacija, ali bez statističke značajnosti, postoji između CPITN i  $\text{TNF-}\alpha$  pre početka terapije.

Utvrđeno je da su ostvarene promene u odnosu na vrednosti pre početka terapije kod većine ispitivanih parametara statistički značajno veće nakon 6 meseci u odnosu na period nakon 3 meseca od početka ortodontske terapije, sa nivoima značajnosti od  $p<0,05$  za SBI,  $p<0,01$  za  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  GST,  $p<0,001$  za PI i  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u pljuvački,  $p<0,001$  za CPITN, odnosno  $p<0,05$  za RANKL ( $p<0,001$ , Wilcoxon Signed-Ranks test, Studentov t-test uparenih uzoraka). Jedino su promene za  $\text{TNF-}\alpha$  na istom nivou 3 i 6 meseci nakon početka terapije.

Kao statistički značajne izdvajaju se i pozitivne korelacije promena SBI i CPITN: srednjeg intenziteta nakon 3 meseca terapije ( $p<0,05$ ) i jaka korelacija 6 meseci nakon početka terapije ( $p<0,01$ ).

Postoji statistički značajan pad vijabilnosti ćelija pri dejstvu svih ispitivanih koncentracija ekstrakata AP materijala, bez obzira na period ekstrakcije Najizraženiji citotoksični efekat zapaža se pri koncentraciji ekstrakta AP materijala od 100%. Statistički značajan pad vijabilnosti ćelija samo pri dejstvosvu 100% ekstrakata SP materijala, a period ekstrakcije, pri zadatoj koncentraciji, ne utiče značajnije na promenu vijabilnosti ćelija. Sa produženjem perioda

ekstrakcije za AP materijale, pri ispitivanoj koncentraciji, smanjuje se proliferacija ćelija za koncentracije ekstrakta od 5, 10, 25 i 50%, dok je pri koncentraciji od 100% vrednost proliferacije veoma niska i ista za sve periode ekstrakcije. Postoji statistički značajan pad proliferacije ćelija samo pri dejstvu 100% ekstrakata SP materijala.

U kulturi makrofaga izloženih suspenzijama AP material izraženi su znaci ćeliske apoptoze, dok nema mnogo znakova koji upućuju na fagocitozu. U kulturi makrofaga izloženih suspenzijama SP material dominiraju znaci fagocitoze.

**Diskusija.** Rezultati sprovedenog istraživanja su detaljno analizirani i upoređivani sa rezultatima drugih autora. Jasnim, preciznim i razumljivim stilom sistematično su diskutovani rezultati uz adekvatnu analizu. Citirane reference su aktuelne, kritički odabrane i značajno doprinose objašnjenju problematike doktorske disertacije. Diskusija dobijenih rezultata je naučno utemeljena, sa tumačenjem patogenetskih mehanizama na molekulskom nivou.

## Zaključci

1. U toku prvih 6 meseci ortodontske terapije fiksnim aparatima evidentno je pogoršanje gingivalnog zapaljenja, jer postoji statistički značajan porast vrednosti svih ispitivanih kliničkih parametara stanja parodontijuma - PI, SBI, CPITN.
2. Nakon 3 i 6 meseci od početka ortodontske terapije postoji statistički značajan porast vrednosti  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  i RANKL u GST, dok ne postoji porast vrednosti TNF- $\alpha$ .
3. Nakon 3 i 6 meseci od početka ortodontske terapije postoji statistički značajan porast vrednosti  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u pljuvački.
4. Ne postoji ili postoji slaba korelacija između praćenih kliničkih parametara i biohemijskih parametara zapaljenja u GST pre početka, 3 i 6 meseci nakon početka ortodontske terapije.
5. Ne postoji ili postoji slaba korelacija između praćenih kliničkih parametara i produkcije NO u pljuvački pre početka, 3 i 6 meseci nakon početka ortodontske terapije .
6. Postoje statistički značajne, pozitivne i veoma izražene korelacije između koncentracije  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u GST i pljuvački, pre početka terapije, 3 i 6 meseci nakon početka terapije.
7. Koncentracije RANKL u GST i koncentracije  $\text{NO}_2+\text{NO}_3$  u GST i pljuvački se mogu koristiti za praćenje zapaljenskog stanja gingive kod ortodontskih pacijenata u terapiji fiksnim aparatima.
8. Pljuvačka i GST mogu poslužiti kao pouzdani medijumi za praćenje zapaljenja gingive kod ortodontskih pacijenata.
9. Dentalni plak nije jedini faktor koji utiče na pojavu zapaljenja gingive i parodontijuma kod ortodontskih pacijenata u terapiji fiksnim aparatima.
10. Ekstrakti AP materijala za lepljenje bravica imaju negativan uticaj na vijabilnost i proliferaciju L929 fibroblasta, čak i pri većem razblaženju, dok ekstrakti SP materijala imaju negativan uticaj na vijabilnost i proliferaciju ćelija samo pri dejstvu 100%-tnih ekstrakata.

11. Uticaj dužine inkubacije ekstrakta SP materijal na smanjenje vijabilnosti i proliferacije fibroblasta je očigledan samo pri dejstvu 100%-tnog ekstrakta.
12. Uticaj dužine inkubacije ekstrakta AP materijala na smanjivanje vijabilnosti ćelija je očigledan samo pri dejstvu 50%-nog ekstrakta.
13. U slučaju dejstva 100% -nog ekstrakta AP materijala ne postoji trend smanjenja vijabilnosti i proliferacije ćelija u odnosu na dužinu ekstrakcije. Vijabilnost i proliferacija ćelija su podjednako niski bez obzira na dužinu inkubacije.
14. Dokazano je veće citotoksično dejstvo AP u odnosu na SP materijale. Pri delovanju suspenzije AP materijala na kulturu makrofaga postoji izraženo toksično dejstvo i indukcija masovne apoptoze ćelija. Ne postoji toksično dejstvo suspenzije SP materijala na kulturu makrofaga. Prisutni su znaci fagocitoze usitnjenih partikula materijala od strane makrofaga, ali i puno intraćelularnih vezikula.
15. Usled blizine gingivalnom sulkusu i GST, materijali za lepljenje bravica predstavljaju faktor rizika za pojavu zapaljenja gingive.

## **Literatura**

Poslednje poglavlje sadrži 234 referenci, uglavnom novijeg datuma, većim delom sa engleskog govornog područja.

## **Glavni naučni doprinos doktorske disertacije**

Doktorska disertacija, pod nazivom „**Uticaj terapije fiksnim ortodontskim aparatima na parodontijum i dijagnostički potencijal biohemijskih parametara zapaljenja**“ je originalan i jedinstven naučni rad, dobro koncipiran, sa jasno definisanim ciljevima i rezultatima od značaja kako za naučnu javnost, tako i za kliničku praksu, posebno kada je reč o identifikovanju značaja biohemijskih parametara zapaljenja u praćenju zapaljenja parodontijuma kao komplikacije terapije fiksnim ortodontskim aparatima.

## **The main scientific contribution of the doctoral dissertation**

The doctoral dissertation, entitled „**Influence of fixed orthodontic appliances therapy on periodontium and diagnostic potential of biochemical parameters of inflammation**“ is original and unique scientific paper, well-conceived, with clearly defined aims and the results of importance for academic community and clinical practice as well, especially in the field of identifying the biochemical parameters of inflammation which could be used in monitoring of the progression of periodontal inflammation as the complication of the therapy with fixed orthodontic appliances.

Na osnovu navedenog, komisija za ocenu doktorske disertacije prihvata i pozitivno ocenjuje doktorsku disertaciju kandidata, dr Predraga Janoševića, pod nazivom „**Uticaj terapije fiksnim ortodontskim aparatima na parodontijum i dijagnostički potencijal biohemijskih parametara zapaljenja**“ i daje predlog Nastavno-naučnom veću Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Nišu da prihvati urađenu disertaciju i donese odluku o njenoj odbrani.

Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije u sastavu:

**Doc. Dr Gordana Filipović, predsednik, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu**

-----

**Prof. dr Ivana Stojanović, mentor i član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu**

-----

**Prof. dr Mirjana Šašić, član, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu**

-----

**Prof. dr Stevo Najman, član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu**

-----

**Prof. dr Ljiljana Kesić, član, Medicinski fakultet Univerziteta u Nišu**

-----