

NASTAVNO – NAUČNOM VEĆU STOMATOLOŠKOG FAKULTETA U BEOGRADU

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na četvrtoj redovnoj sednici održanoj 17.03.2015. godine donelo odluku zavedenu pod brojem 3/24 o imenovanju komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije dr Nede Perunović pod naslovom:

**„ NIVOI IL-1 β , IL-6, TNF- α i PGE2 U GINGIVALNOJ TEČNOSTI I U KRVI
PREVREMENO POROĐENIH ŽENA SA PARODONTITISOM “.**

Na osnovu pregleda priloženog materijala, imenovana komisija u sastavu: Prof. dr Saša Janković, Prof. dr Jelena Milašin, Prof. dr Zoran Aleksić, Doc. dr Ana Pucar, Prof. dr Darko Plećaš, podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

I Z V E Š T A J

Dr Neda Perunović rođena je u Zaječaru, 16.11.1982. Godine. Osnovnu i srednju zubotehničku školu je završila u Beogradu. Diplomirala je 2007. godine na Stomatološkom fakultetu u Beogradu sa prosečnom ocenom 8.93. Nakon pripravničkog staža obavljenog na klinikama Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, položila je stručni ispit 2009. godine. Prvu godinu doktorskih akademskih studija iz naučne oblasti Parodontologija je upisala školske 2008/2009 godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Položila je sve ispite predviđene planom i programom akademskih doktorskih studija sa prosečnom ocenom 9,81.

Dr Neda Perunović je aktivan učesnik brojnih skupova nacionalnog i međunarodnog sadržaja gde je prezentovala 7 naučnih radova (poster prezentacije). Dr Perunović je do sada objavila 4 naučna rada, od kojih su su 3 u međunarodnim časopisima (SCI lista). Član je srpskog lekarskog društva (SLD) (sekcija za parodontologiju).

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na šestoj redovnoj sednici održanoj 25.06.2013. godine usvojilo pozitivan izveštaj stručne komisije za ocenu predloga teme i imenovalo prof. dr Sašu Čakića kao mentora za izradu ove doktorske disertacije.

Doktorska disertacija dr Nede Perunović je napisana na 115 strana, raspoređenih u 8 poglavlja: Sadržaj, Uvod, Ciljevi, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak i Literatura. Dokumentovana je sa 9 fotografija, 10 tabela i 20 grafikona.

U **Uvodu** kandidat ističe visoku zastupljenost oboljenja parodontijuma u humanoj populaciji, daje definiciju formi parodontalnih bolesti koje su bile predmet istraživanja i klasifikaciju parodontopatija. Detaljno su opisani mikrobiološki i imunološki aspekt patogeneze parodontopatije. U ovom poglavlju kandidat objašnjava koji su to parapatogeni mikroorganizmi uključeni u nastanak i razvoj parodontopatije i ističe značaj imunoloških reakcija domaćina u destrukciji tkiva parodontijuma. Opisani su medijatori zapaljenskih i imunskih reakcija - interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), faktor nekroze tumora alfa (TNF- α) i prostaglandin E2 (PGE2) koji imaju ključnu ulogu u destrukciji tkiva parodontijuma u toku parodontopatije

U delu Etiologija i patogeneza prevremenog porođaja, kandidat najpre opisuje složenu interakciju hormona i citokina koji regulišu porođaj. Ističe se visoka stopa nepovoljnog ishoda trudnoće- prevremenog porođaja na globalnom nivou i navode se brojna oboljenja kojima su izložena prevremeno rođena novorođenčad. Analizirajući multifaktornost prevremenog porođaja detaljno su opisani etiološki činioci i faktori koji se dovode u vezu sa prevremenim porođajem. Posebno se ukazuje na ulogu infekcije i inflamacije kao najzastupljenijeg etiološkog faktora prevremenog porođaja. Kandidat naglašava da je uloga proinflamatornih medijatora (IL-1, IL-6, TNF- α i PGE2) evidentna u inicijaciji i terminskog i prevremenog porođaja. Navedeni medijatori inflamacije su označeni kao biohemijski markeri porođaja.

U delu Parodontopatija i prevremeni porođaj - biološki mehanizmi povezanosti kandidat razmatra potencijalnu povezanost parodontopatije i prevremenog porođaja. Navodi se da je ustanovljeno da parodontopatija trudnica predstavlja faktor rizika za prevremeni porođaj, ali da tačan mehanizam povezanosti ova dva patološka stanja nije u

potpunosti razjašnjen. Ističe se da parodontopatija kao hronično inflamatorno oboljenje predstavlja izvor medijatora inflamacije koju su ujedno i biohemijski markeri porođaja. Razmotreni su mogući direktni i indirektni mehanizam kojim bi infekcija u parodoncijumu mogla da uslovi prevremeni porođaj. Direktni mehanizam podrazumeva hematogenu diseminaciju parodontopatogenih bakterija i patoloških produkata u fetoplacentalnu jedinicu koji posledično stimulišu lokalnu inflamaciju. Indirektni mehanizam podrazumeva da medijatori zapaljenja iz parodontalnog žarišta prodiru u cirkulaciju, dospevaju u fetoplacentalnu jedinicu i povećaju nivoe već pristunih medijatora. Konačno, na kraju ovog poglavlja postavlja se hipoteza ove studije koja glasi da patogenetski mehanizmi parodontopatije i prevremenog porođaja uključuju povećanu produkciju određenih istih proinflamatornih medijatora, te je moguće postojanje udruženosti ova dva patološka stanja.

U poglavlju **Ciljevi** kandidat jasno navodi ciljeve studije:

- Odrediti nivoe IL-1 β , IL-6, TNF- α i PGE2 u gingivalnoj tečnosti i u perifernoj venskoj krvi kod prevremeno porođenih žena i žena porođenih u očekivanom terminu
- Ispitati da li su nivoi ispitivanih medijatora zapaljenja u gingivalnoj tečnosti svojstveni različitim stanjima tkiva parodoncijuma
- Ispitati da li su nivoi ispitivanih medijatora zapaljenja u perifernoj venskoj krvi svojstveni različitim stanjima tkiva parodoncijuma
- Ispitati prisustvo parodontopatogenih mikroorganizama (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola*) u subgingivalnom plaku prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu
- Ispitati da li su detektovani parodontopatogeni mikroorganizmi svojstveni različitim stanjima tkiva parodoncijuma
- Komparativnom analizom kliničkih parametara stanja parodoncijuma i nivoa medijatora zapaljenja u gingivalnoj tečnosti i u perifernoj venskoj krvi kod prevremeno porođenih žena ispitati moguću povezanost parodontopatije i prevremenog porođaja

U poglavlju **Materijal i metode** kandidat navodi sve segmente studijskog dizajna i opisuje metode koje su korišćene u laboratorijskom delu istraživanja. U istraživanje je bilo uključeno 120 sistemskih zdravih žena: 60 prevremeno porođenih žena (pre 37. nedelje gestacije) i 60 žena porođenih u terminu (nakon 37. nedelje gestacije). Sve ispitanice su bile porođene na Klinici za ginekologiju i akušerstvo Kliničkog centra Srbije. Sproveden je kompleksan metodološki koncept, koji je obuhvatio klinički pregled parodontalnih tkiva, uzimanje uzoraka gingivalne tečnosti i subgingivalnog plaka, uzimanje uzoraka periferne venske krvi i laboratorijske analize uzoraka. Primenom strogo definisanih kriterijuma isključenja iz studije nastojalo se izbeći eventualni uticaj poznatih faktora rizika prevremenog porođaja na ishod trudnoće. Procedure - parodontološki pregled, uzorkovanje gingivalne tečnosti, subgingivalnog plaka i periferne venske krvi, su se sprovodile do 48 časova nakon porođaja. Evaluacija stanja parodontalnih tkiva i nivoa oralne higijene izvedena je merenjem sledećih kliničkih parametara: dubine sondiranja (DS), nivoa pripojnog epitela (NPE), krvarenja na provokaciju (KNP), plak indeksa (PI) i gingivalnog indeksa (GI). Na osnovu merenih kliničkih parametara izvršeno je dalje grupisanje porođenih žena u odnosu na stanje tkiva parodontijuma: porodilje sa zdravim parodontijumom, porodilje sa dijagnostikovanim gingivitisom i porodilje sa dijagnostikovanom parodontopatijom.

Od svake porodilje uzeti su uzorci gingivalne tečnosti i subgingivalnog plaka sa istog mesta reprezentativnog zuba. U slučaju parodontopatije uzorak se uzimao iz parodontalnog džepa zuba sa najvećom vrednošću nivoa pripojnog epitela, kod gingivitisa sa najvećom vrednošću gingivalnog indeksa Loe-Silness i u slučajevima klinički zdravog parodontijuma sa mezijalnog strane prvog stalnog molara u gornjoj vilici. U slučajevima nepostajanja prvog molara, kao reprezentativno mesto za uzorkovanje se uzimala mezijalna strana gornjeg prvog premolara. Uzorci gingivalne tečnosti i subgingivalnog dentalnog plaka su bili zamrznuti na -70°C do početka analize.

Laboratorijski deo istraživačkog postupka je podrazumevao određivanje koncentracija medijatora zapaljenja u uzorcima gingivalne tečnosti i periferne venske krvi i mikrobiološku analizu subgingivalnog dentalnog plaka. Evaluacija nivoa IL-1 β , IL-6, TNF- α i PGE2 u uzorcima gingivalne tečnosti i periferne venske krvi ispitanica izvršena je primenom imunoabsorpcionog testa - ELISA (eng. *Enzyme-linked immunosorbent assay*). Prisustvo genoma parodontopatogenih mikroorganizama

Porphyromonas gingivalis, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* i *Treponema denticola* u uzorcima subgingivalnog dentalnog plaka, dokazivano je lančanom reakcijom polimeraze (Polymerase chain reaction-PCR).

Statističkom analizom bili su obuhvaćeni svi parametri uključeni u klinička i laboratorijska. Sve analize su izvršene primenom statističkog paketa SPSS (SPSS 20.0, Inc., Chicago, IL, USA) sa nivoom značajnosti postignutim na 5% ($p < 0.05$).

U poglavlju **Rezultati** istaknute su vrednosti statističke analize pomoću tabela i grafikona. Rezultati su pokazali da je grupa prevremeno porođenih žena pokazala statistički značajno veće vrednosti svih merenih kliničkih parametara, značajno veću zastupljenost parodontopatije i značajno povišene nivoe PGE2 i IL-6 u gingivalnoj tečnosti u poređenju sa grupom žena porođenih u terminu ($p < 0.001$). Zastupljenost zdravih parodontalnih tkiva je bila značajno veća u grupi žena porođenih u terminu u odnosu na grupu prevremeno porođenih žena. Poređenjem dobijenih vrednosti ispitivanih medijatora zapaljenja u uzorcima periferne venske krvi ispitanica između grupe prevremeno porođenih žena i grupe žena porođenih u terminu nije dobijena statistički značajna razlika. Poređenjem dobijenih vrednosti ispitivanih medijatora zapaljenja između ispitanica sa različitim stanjima tkiva parodontijuma dobijeno je da su nivoi IL-1 β , IL-6 i PGE2 u gingivalnoj tečnosti bili statistički značajno povišeni kod ispitanica obolelih od parodontopatije u odnosu na one sa klinički zdravim parodontijumom. U gingivalnoj tečnosti ispitanica sa gingivitisom statistički značajno su bili povišeni nivoi IL-1 β , IL-6, TNF- α u odnosu na ispitanice sa klinički zdravim parodontijumom. Poredeći navedene medijatore nije nađena statistička značajnost između ispitanica sa gingivitisom i klinički zdravim parodontijumom. IL-1 β u uzorcima gingivalne tečnosti porodilja je bio značajno pozitivno korelisan sa krvarenjem na provokaciju (KNP) i gingivalnim indeksom (GI). IL-6 i PGE2 u gingivalnoj tečnosti porodilja su pokazali statistički značajno pozitivnu korelaciju sa svim merenim kliničkim parametrima. PGE2 u uzorcima plazme porodilja je pokazao značajno pozitivnu korelaciju sa dubinom sondiranja (DS), nivoom pripojnog epitela (NPE) i gingivalnim indeksom (GI). U grupi žena porođenih u terminu nivoi PGE2 i IL-6 u gingivalnoj tečnosti su bili značajno pozitivno korelisani sa nivoom IL-1 β u plazmi, nivo IL-1 β u gingivalnoj tečnosti je bio značajno pozitivno korelisan sa nivoom IL-6 u

plazmi i nivo TNF- α u GT je bio značajno negativno korelisan sa njegovim nivoom u plazmi. U grupi prevremeno porođenih žena nivo TNF- α je bio značajno pozitivno korelisan sa nivoom PGE2 u plazmi. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Treponema denticola* su bile zastupljene u većem procentu uzoraka subgingivalnog plaka prevremeno porođenih žena u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima subgingivalnog plaka žena porođenih u terminu. Zastupljenost bakterije *Prevotella intermedia* u subgingivalnom plaku se nije razlikovala između prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu.

Kandidat u **Diskusiji** tumači dobijene rezultate i poredi ih sa rezultatima drugih, relevantnih studija. Takođe, izlaže saznanja i činjenice koje doprinose razumevanju postavljenog naučnog problema. Ova studija predstavlja prvu studiju u našoj zemlji koja se bavila analizom imunoloških parametara svojstvenih i parodontopatiji i prevremenom porođaju kod prevremeno porođenih žena i žena porođenih u očekivanom terminu.

U **Zaključku** se ističe da su nivoi PGE2 i IL-6 u gingivalnoj tečnosti bili značajno povišeni kod prevremeno porođenih žena u odnosu na žene porođene u terminu. Nivoi IL-1 β i TNF- α u gingivalnoj tečnosti, kao i nivoi svih evaluiranih medijatora zapaljenja u perifernoj venskoj krvi nisu pokazali značajnu razliku između ispitivanih grupa. Od ispitivanih medijatora zapaljenja u perifernoj venskoj krvi nivoi TNF- α i PGE2 su bili značajno veći u ispitanica obolelih od parodontopatije u odnosu na ispitanice sa klinički zdravim parodoncijumom. Nivoi medijatora zapaljenja u krvi se nisu značajno razlikovali kada su poređene njihove vrednosti između ispitanica sa gingivitisom i onih sa zdravim parodoncijumom, kao ni između ispitanica obolelih od parodontopatije i onih sa gingivitisom. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Treponema denticola* su bile zastupljene u većem procentu uzoraka subgingivalnog plaka prevremeno porođenih žena u odnosu na njihovu zastupljenost u uzorcima subgingivalnog plaka žena porođenih u terminu. Zastupljenost bakterije *P.intermedia* u subgingivalnom plaku se nije razlikovala između prevremeno porođenih žena i žena porođenih u terminu. *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* i *Treponema denticola* su bile zastupljenije u većem procentu uzoraka subgingivalnog plaka ispitanica obolelih od parodontopatije u odnosu na uzorke

subgingivalnog plaka ispitanica sa gingivitisom, kao i u odnosu na ispitanice sa klinički zdravim parodontcijumom. Procenat uzoraka subgingivalnog plaka sa prisutnim navedenim mikroorganizmima se nije značajno razlikovao između ispitanica obolelih od parodontopatije i ispitanica sa gingivitisom. *P.intermedia* je bila zastupljenija u većem procentu uzoraka ispitanica sa klinički zdravim parodontcijumom u odnosu na ispitanice sa gingivitisom. Zastupljenost *P.intermedia* u subgingivalnom plaku ispitanica obolelih od parodontopatije se nije značajno razlikovala u odnosu na ispitanice sa gingivitisom, kao i ni u odnosu na ispitanice sa klinički zdravim parodontcijumom. Komparativnom analizom u ovoj studiji ustanovljeno je da su prevremeno porođene žene imale značajno veću zastupljenost parodontopatije, veće vrednosti svih kliničkih parametara stanja parodontcijuma i više nivoa PGE2 i IL-6 u gingivalnoj tečnosti u poređenju sa ženama porođenim u terminu. Takođe, ova studija je pokazala da su u plazmi ispitanica obe grupe obolelih od parodontopatije ustanovljeni povišeni nivoi PGE2 i TNF- α u porođenju sa ispitanicama sa zdravim parodontalnim tkivima.

Rezultati ove studije ukazuju na potencijalni uticaj parodontopatije na povišenje nivoa medijatora zapaljenja koji su ujedno i biohemijskih markeri porođaja.

Poglavlje **Literatura** sadrži 179 bibliografskih jedinica iz domaće i strane relevantne literature.

Nakon uvida u dostavljeni tekst, komisija je jednoglasno ocenila da doktorska disertacija dr Nede Perunović pod nazivom „ **Nivoi IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE2 u gingivalnoj tečnosti i u krvi prevremeno porođenih žena sa parodontitisom** “ predstavlja inovativno, samostalno i dobro dokumentovano istraživanje. Ispitivanje nivoa IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE2 u gingivalnoj tečnosti i u krvi prevremeno porođenih žena sa parodontitisom do sada nije obrađeno u domaćoj literaturi, pa ova doktorska disertacija daje značajan doprinos obogaćivanju znanja u oblasti prevremenog porođaja, parodontalne, pa i medicine uopšte.

Doktorska disertacija ispunjava sve kriterijume propisane Zakonom o Univerzitetu i statutima Univerziteta i Stomatološkog fakulteta u Beogradu.

Na osnovu iznetog, predlažemo Nastavno.naučnom veću Stomatološkog fakulteta da prihvati izveštaj i oceni kao podobnu za javnu odbranu doktorsku disertaciju dr Nede Perunović pod nazivom „ **Nivoi IL-1 β , IL-6, TNF- α , PGE2 u gingivalnoj tečnosti i u krvi prevremeno porođenih žena sa parodontitisom** “.

U Beogradu,

Prof. dr Saša Janković

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Jelena Milašin

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Zoran Aleksić

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc. dr Ana Pucar

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Darko Plećaš

Medicinski fakultet, Univerzitet u Beogradu