

NASTAVNO – NAUČNOM VEĆU

STOMATOLOŠKOG FAKULTETA U BEOGRADU

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na VII redovnoj sednici u školskoj 2014/2015. godini, održanoj 15.09.2015. godine, donelo odluku zavedenu pod brojem 3/67 o imenovanju komisije za ocenu i odbranu završene doktorske disertacije dr Nataše Milošević pod nazivom

„POLIMORFIZMI U MTHFR, GSTM1, GSTT1, MMP9 GENIMA KAO FAKTORI PREDISPOZICIJE ZA POJAVU TEMPOROMANDIBULARNIH DISFUNKCIJA“.

Na osnovu pregleda priloženog materijala, komisija u sastavu Prof. dr Ljiljana Tihaček-Šojić, Doc. dr Aleksandra Špadijer-Gostović i Prof. dr Ivana Novaković sa Medicinskog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, podnosi Nastavno-naučnom veću sledeći

I Z V E Š T A J

Doktor stomatologije Nataša Milošević rođena je 30.12.1983. godine u Tuzli. Osnovnu školu i XIII Gimnaziju u Beogradu, završila je sa odličnim uspehom. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2002. godine, a diplomirala 2008. godine sa prosečnom ocenom 8,88. U toku akademske godine 2007/2008 učestvovala je u izvođenju praktične nastave kao demonstrator na predmetu Bolesti zuba – pretklinika i klinika, kao i u studentskim naučno-istraživačkim radovima. Pripravnički staž obavila je na Vojnomedicinskoj akademiji (VMA), nakon čega je 2010. godine položila stručni ispit za doktora stomatologije.

Doktorske studije iz naučne oblasti Stomatološka protetika, upisala je školske 2009/2010. godine i položila sve ispite predviđene nastavnim planom i programom doktorskih studija, sa prosečnom ocenom 9,75. Od 2011. godine, angažovana je na projektu Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije, pod nazivom “ Genetička kontrola i molekularni mehanizmi u malignim, inflamatornim i razvojnim patologijama orofacijalne regije, rukovodioca prof.dr Jelene Milašin (broj projekta 175075). Na klinici za stomatološku protetiku Stomatološkog fakulteta u Beogradu od 2013. godine obavlja i zdravstvene specijalističke studije.

Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu je na IV redovnoj sednici u školskoj 2012/2013. godini održanoj 05.03.2013. godine zavedenu pod brojem 3/26 usvojilo pozitivan izveštaj stručne komisije za ocenu predloga teme i imenovalo Prof.dr Vojkana Lazića i Prof.dr Jelenu Milašin za mentore ove doktorske disertacije. Doktorska disertacija dr Nataše Milošević je napisana na 163 strane, raspoređene u 7 poglavlja: Uvod, Ciljevi, Materijal i metode, Rezultati, Diskusija, Zaključak i Literatura. Dokumentovana je sa 92 tabele i 27 slika.

U **Uvodu** kandidat opisuje kliničke karakteristike temporomandibularnih disfunkcija (TMD) i njihovu klasifikaciju sa osvrtom na dosadašnju etiologiju. Istaknuta je važnost detaljnog sagledavanja uzročnih faktora TMD i pregled literature ukazao je na značaj naslednih faktora koji su i predmet samog istraživanja. Opisano je kako prisustvo određenih polimorfizama može da utiče na smanjenu ili povećanu predispoziciju pojedinca za nastanak različitih oboljenja kao i na specifičan odgovor na terapiju. Nosioци određenog genotipa imaju veći/manji rizik za nastanak oboljenja, pa čak i veću mogućnost ispoljavanja simptoma karakterističnih za dato oboljenje. Ovim je objašnjeno time da razlike u genotipovima mogu značajno da utiču na fenotip, odnosno težinu kliničke slike. U ovom poglavlju je objašnjena uloga polimorfizama u genima koji menjaju katalitičku aktivnost, stabilnost i nivo ekspresije odgovarajućih enzima, a samim tim mogu potencijalno da doprinesu nastanku TMD.

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

- Ispitati povezanost polimorfizama u genima uključenim u kontrolu sinteze DNK i metabolizam folata (*MTHFR*), detoksikacije (*GSTM1*, *GSTT1*) i remodelacije ekstraćelijskog matriksa (*MMP-9*) sa nastankom temporomandibularnih disfunkcija,
- Ustanoviti eventualnu asocijaciju između genotipova različitih polimorfizama i kliničkih karakteristika pacijenata sa TMD.

U okviru ciljeva istraživanja doktorske disertacije definisani su sledeći zadaci:

1. Utvrđivanje osnovnih epidemioloških i kliničkih parametara u grupi sa TMD.
2. Utvrđivanje učestalosti alela i genotipova za polimorfizam pojedinačnog nukleotida *MTHFR* 677C>T, delecioni polimorfizam u *GSTM1* i *GSTT1* genima i promotorski polimorfizam pojedinačnog nukleotida *MMP9* -1562 C>T u grupi pacijenata sa temporomandibularnim disfunkcijama i u kontrolnoj grupi.
3. Ispitivanje asocijacije polimorfizama navedenih gena i rizika za nastanak temporomandibularnih disfunkcija, na osnovu razlike u distribuciji učestalosti alela i genotipova između TMD grupe i kontrolne grupe.

4. Utvrđivanje povezanosti genotipova sa kliničkim fenotipom u okviru TMD grupe.

U poglavlju **Materijal i metode** kandidat navodi sve segmente studijskog dizajna i opisuje metode koje su primenjene u okviru kliničkog i molekularno-genetičkog ispitivanja. Detaljno opisuje kriterijume za odabir pacijenata, standardni dijagnostički protokol za TMD kao i pomoćne dijagnostičke procedure. Istraživanje je sprovedeno kao prospektivna klinička studija u koju su bile uključene dve grupe ispitanika. Studijsku grupu činilo je 100 pacijenata, koji su došli na Klinikum za stomatološku protetiku i Klinikum za maksilofacijalnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, sa nekim od simptoma temporomandibularnih disfunkcija, i kod kojih je utvrđen ovaj poremećaj. Kontrolnu grupu činila su 182 zdrava ispitanika kod kojih nije prisutan nijedan znak niti simptom TMD. Za potrebe molekularno-genetičkog ispitivanja uzimani su uzorci brisa sa obrazne sluzokože, obostrano, u eksperimentalnoj i u kontrolnoj grupi iz kojih je izolovana DNK. Nakon izolacije DNK molekula primenjena je PCR/RFLP analiza (lančana reakcija polimeraze i restrikciona analiza) u cilju genotipizacije obe grupe ispitanika za polimorfizme u MTHFR, GSTM1, GSTT1 i MMP9 genima. Statističkom obradom podataka analizirane su razlike u učestalosti alela i genotipova između TMD i kontrolne grupe Hi kvadrat testom. Logističkom regresionom analizom utvrđivana je povezanost genskih varijacija sa rizikom za nastanak TMD. Korišćen je statistički program SPSS 18.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA).

U poglavlju **Rezultati** prvo su analizirani klinički rezultati i tabelarno su prikazane distribucija ispitanika prema polu i starosti i distribucija grupa TMD i karakterističnih simptoma. Nakon toga je tabelarno prikazano poređenje učestalosti TMD disfunkcija (mišićna, zglobna, kombinovana) i sva četiri karakteristična simptoma (bol, devijacija/defleksija, ograničene kretnje, zvuk) među polovima i osobama različite starosne dobi. Takođe je u okviru ovih rezultata, korišćenjem univarijantne i multivarijantne analize, prikazana i procena veće/manje verovatnoće za pojavu pomenutih disfunkcija i simptoma u odnosu na pol i godine. Tabelarno su dati i podaci molekularno-genetičkog ispitivanja, odnosno pokazana je zastupljenost različitih genotipova i alela među grupama kao i njihov uticaj na predispoziciju za nastanak TMD. Pored analize polimorfizama kao faktora rizika za pojavu TMD, poređenjem učestalosti pojave različitih simptoma i disfunkcija kod različitih genotipova za sva četiri navedena gena dobijeni su i podaci o povezanosti genotip- fenotip.

Kandidat u **Diskusiji** koja je podeljena na klinički i na molekularno-genetički aspekt, izlaže saznanja i činjenice koje doprinose ukupnom razumevanju postavljenog problema. Tumači dobijene rezultate i poredi ih sa rezultatima drugih, relevantnih studija i daje smernice za dalja istraživanja. Kandidat je u naučnoj literaturi pronašao mali broj radova koji se bave ispitivanjem ovih genskih polimorfizama i njihove uloge kao predisponirajućeg faktora u nastanku TMD, pa

tako rezultati dobijeni u ovoj nedovoljno obrađenoj oblasti disertaciji Nataše Milošević daju posebnu težinu.

Zaključci su jasno formulisani i pružaju odgovore na postavljene ciljeve. Kandidat navodi da su TMD značajno zastupljenije kod osoba ženskog pola u odnosu na osobe muškog pola kao i da su zglobne disfunkcije znatno učestalije u odnosu na mišićne i kombinovane. Pokazano je da starosna dob utiče na pojavu zvučnih efekata u zglobu kao i na mišićne i zglobne disfunkcije kod pacijenata sa temporomandibularnim disfunkcijama. Osobe mlađe od 30 godine imaju tri puta veću verovatnoću za pojavu zglobne disfunkcije i zvučnih efekata u zglobu od osoba starijih od 30 godina. Osobe mlađe od 30 godina imaju dva i po puta manju verovatnoću za pojavu mišićne disfunkcije. Iz ovoga proizilazi da je pojava zglobnih disfunkcija i zvučnih efekata karakteristika mladih, a da stariji imaju značajno veću predispoziciju za pojavu mišićnih disfunkcija. U okviru genetičkih parametara polimorfizam u genu za MTHFR se nije pokazao kao faktor predispozicije za nastanak TMD. Delecioni polimorfizam u genu za GSTM1 i GSTT1 igra ulogu modifikatora predispozicije za nastanak TMD, tačnije ima protektivni efekat. Nosioci nultog GSTT1 genotipa i kombinacije GSTM1 M1 i GSTT1 T0 genotipova imaju šest puta manji rizik za pojavu TMD. Nosioci GSTM1 M1 genotipa su pokazali češću pojavu devijacije/defleksije u poređenju sa nosiocima M0 genotipa. Polimorfizam u genu za MMP9 se pokazao kao modulator rizika za nastanak TMD. Nosioci CT genotipa ispoljavaju dva puta veći rizik za nastanak TMD u odnosu na osobe divljeg genotipa (CC homozigoti). Kandidat takođe zaključuje da su glavni faktori rizika za nastanak TMD: ženski pol (tri puta veći rizik za pojavu TMD) i GSTT1 T1 genotip (pet puta veći rizik za pojavu ovog poremećaja).

Literatura je sveobuhvatna i savremena. Sadrži 165 bibliografskih jedinica iz domaće i strane relevantne literature.

Zaključak

Doktorska disertacija dr Nataše Milošević predstavlja dobro dokumentovanu eksperimentalnu studiju koja daje doprinos u oblasti proučavanja polimorfizama gena uključenih u kontrolu sinteze DNK i metabolizam folata, detoksikacije, i remodelacije ekstraćelijskog matriksa sa nastankom temporomandibularnih disfunkcija. Disertacija predstavlja doprinos u rasvetljavanju povezanosti polimorfizama pomenutih gena sa rizikom od nastanka temporomandibularnih disfunkcija, kao i vezu polimorfizama sa izraženošću kliničkih simptoma. Poznavanje genetičkih polimorfizama koji mogu da se smatraju faktorima predispozicije za oboljevanje od TMD može značajno da poboljša prevenciju TMD i drugih bolnih stanja u orofacijalnoj regiji.

Kompleksnost teme ove disertacije, njena jedinstvenost, kao i dobijeni rezultati ukazuju na naučnu zrelost kandidata. Postavljeni ciljevi istraživanja su sistematično proučeni primenom

adekvatnih naučnih metoda. Rezultati su precizno obrađeni, i logično interpretirani u skladu sa postavljenim ciljevima. Diskusija je detaljna i sveobuhvatna.

Nakon uvida u dostavljeni tekst, komisija je jednoglasno ocenila da doktorska disertacija pod nazivom „**POLIMORFIZMI U MTHFR, GSTM1, GSTT1, MMP9 GENIMA KAO FAKTORI PREDISPOZICIJE ZA POJAVU TEMPOROMANDIBULARNIH DISFUNKCIJA**“ dr Nataše Milošević predstavlja originalno, samostalno i dobro dokumentovano istraživanje. Ispitivanje povezanosti genetičkih polimorfizama i TMD do sada nije obrađeno u domaćoj literaturi.

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 Univerziteta u Beogradu da prihvati izveštaj i odredi datum javne odbrane ove doktorske disertacije.

U Beogradu, 03.11.2015

Prof. dr Ljiljana Tihaček Šojić
Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Doc.dr Aleksandra Špadijer Gostović
Stomatološki fakultet, Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Ivana Novaković
Medicinski fakultet, Univerziteta u Beogradu

