

# NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU

## STOMATOLOŠKOG FAKULTETA U BEOGRADU

Odlukom Nastavno-naučnog veća Stomatološkog fakulteta u Beogradu, koja je doneta na III redovnoj sednici održanoj 26.04.2016. godine, imenovani smo u komisiju za ocenu završene doktorske disertacije dr Nade Novaković sa naslovom: „Uticaj različitih metoda konzervativnog lečenja obolelih od hronične parodontopatije na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke“.

Na osnovu predloga priloženog rukopisa doktorske disertacije, podnosimo Nastavno-naučnom veću sledeći

### IZVEŠTAJ

Rukopis doktorske disertacije dr Nade Novaković, sa nazivom „**Uticaj različitih metoda konzervativnog lečenja obolelih od hronične parodontopatije na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke**“, ima 112 stranica kompjuterski složenog teksta sa 44 originalne tabele, 18 grafikona, kao i 137 bibliografskih navoda iz strane i domaće referentne stručne i naučne literature.

Celokupna materija je izložena u osam poglavlja: UVOD, LITERATURNI PODACI, RADNA HIPOTEZA I CILJEVI ISTRAŽIVANJA, MATERIJAL I METODE, REZULTATI ISTRAŽIVANJA, DISKUSIJA, ZAKLJUČAK i LITERATURA.

U **Uvodu** autor ističe da je parodontopatija najrasprostranjenije oralno inflamatorno oboljenje parodontalnih tkiva praćeno destrukcijom alveolarne kosti, periodontalnih ligamenata, gingive i cementa, čija je posledica gubitak zuba i pojava krezubosti ili bezubosti. Autor ističe kako je etiologija parodontopatije dobro poznata dok je patogeneza ovog oboljenja još uvek nedovoljno rasvetljena i stoga predmet mnogih istraživanja. Kako je navedeno u ovom radu, oksidativnom stresu se pridaje sve značajnija uloga u patogenezi inflamatornih procesa u organizmu. Pošto je parodontopatija inflamatorno oboljenje to su slobodniradikali i oksidativni stres odgovorni i za njen nastanak. Dejstvu slobodnih radikala se suprotstavljaju mehanizmi antioksidativne zaštite. Autor se posebno osvrće na ulogu pljuvačke u odbrani usne duplje i njene antioksidativne mehanizme. Ističe se da je analiziranje antioksidanasa pljuvačke, kao i njenog ukupnog antioksidativnog kapaciteta značajno je za bolje razumevanje patogeneze parodontopatije i uvođenje novih preventivnih mera.

U poglavlju **Literaturni podaci**, podeljenom u šest ovojenih celina, autor je ukazao na izuzetan značaj oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite u patogenezi

parodontopatije. Takođe se ističe i uloga pljuvačke u očuvanju zdravlja i integriteta oralnih tkiva, kao i mogućnost korišćenja pljuvačke u dijagnostičke svrhe.

U prvom delu (*etiologija i patogeneza parodontopatije*), obrađena je literatura koja se odnosi na prouzrokovaca ovog oboljenja (biofilm- dentalni plak) i akcesorne etiološke faktore u nastankum parodontopatije. Predstavljeni su mehanizmi patogeneze ovog oboljenja.

U drugom delu (*oksidativni stres i antioksidansi*) obrađuju se podaci iz literature koji se odnose na mehanizme nastanka i dejstva slobodnih radikala u organizmu. Takođe su predstavljene i mehanizmi antioksidativne zaštite. Poseban akcenat stavljen je na pokazatelje oksidativnog stresa koji reflektuju oštećenje parodontocijuma kao i na one antioksidanse koji imaju važnu ulogu u antioksidativnoj zaštiti usne duplje.

Autor u trećem delu pregleda literature (*uloga oksidativnog stresa u patogenezi parodontopatije*) razmatra osnovne koncepte mehanizma delovanja slobodnih radikala u toku inflamatornih procesa u parodontocijumu. U okviru ovog poglavlja ističu se i mehanizmi delovanja antioksidativne zaštite u patogenezi parodontopatije.

Četvrti deo (*pljuvačka*) bavi se sastavom i ulogom pljuvačke. Autor ističe zaštitnu ulogu pljuvačke, a naročito njen antioksidativni potencijal. Takođe se govori i o korišćenju pljuvačke kao dijagnostičke tečnosti, naročito u dijagnozi oboljenja usne duplje sa kojima je pljuvačka u neposrednom kontaktu.

Autor u petom delu (*rezultati prethodnih istraživanja vezanih za ispitivanje oksidativnog stresa i antioksidativnog kapaciteta pljuvačke obolelih od parodontopatije*) navodi najznačajnije podatke iz svetske i domaće literature na temu oksidativnog stresa i antioksidativne zaštite pljuvačke kod osoba sa inflamatornim oboljenjem parodontocijuma.

Šesti deo (*Rezultati prethodnih istraživanja vezanih za rezultate postignute metodom dezinfekcije celih usta u odnosu na tradicionalni pristup kauzalnoj terapiji parodontopatije*) je posvećen značajnim radovima iz svetske i domaće literature koji porede rezultate dezinfekcije celih usta i tradicionalnog višeseansnog pristupa konzervativnoj terapiji.

Inflamatorna oboljenja potpornog aparata zuba pripadaju najučestalijim oboljenjima kod savremenog čoveka. Po nekim istraživanjima više od 90% populacije boluje od nekog oboljenja parodontocijuma. Lečenje ovih oboljenja i saniranje njihovih posledica predstavlja važan socioekonomski problem. Kada dođe do klinički vidljivog inflamatornog procesa u parodontocijumu to obično predstavlja stanje koje je potencijalno ireverzibilano. U parodontologiji je zato i dalje otvorena ideja o uvođenju biohemijskih analiza koje bi dijagnostikovale postojanje inflamatornog procesa u parodontocijumu pre nego što je moguće da se on uoči na kliničkom nivou.

Zbog toga je ideja ove studije bila da se uporedi uticaj dezinfekcije celih usta i tradicionalnog pristupa kauzalnoj terapiji obolelih od parodontopatije na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke, što je evaluirano sledećim ciljevima:

1. *Ustanoviti razlike nivoima pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidanasa (malondialdehida, 8-hidroksi2-deoksiguanozina, glutation peroksidaze, superoksid dismutaze), kao i u ukupnom antioksidativnom kapacitetu pljuvačke kod:*

*1.1 obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene terapije metodom dezinfekcije usne duplje*

*1.2 obolelih od hronične parodontopatije pre i nakon sprovedene konzervativne terapije uobičajenim višeseansnim postupkom.*

2. *Ustanoviti korelaciju gore navednih biohemijskih parametara sa kliničkim parametrima stanja parodontijuma*

*2.1 pre sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata*

*2.2 nakon sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata*

U razrešavanju postavljenih zadataka, autor je obavio obimna istraživanja čiju metodologiju obrazlaže u četvrtom poglavlju, **Materijal i metodologija istraživanja**. Precizno su navedeni materijal i metodologija kliničkih ispitivanja sa detaljno opisanim terapijskim protokolom. U ovo ispitivanje su bilo je uključeno 54 ispitanika obolelia od hronične parodontopatije u punoj kliničkoj slici, bez sistemskih ili drugih oralnih oboljenja, starosti 25-55 godina. Kod svih ispitanika je u prvoj poseti urađena klinička procena stanja parodontijuma i uzeta pljuvačka za analizu. Svi klinički parametri beleženi su u istraživački karton posebno dizajniran za ovo istraživanje. Vođeno je računa da sva klinička merenja kao i terapiju svih pacijenata uključenih u istraživanje obavlja isti lekar standardizovanim postupcima. Pacijenti koji su bili uključeni u istraživanje bili su izabrani po takvim kriterijumima da čine statistički homogenu grupu. Takođe se vodilo računa i o medicinskim kriterijumima za učešće u istraživanju. Svaki pacijent je pre uključivanja u istraživanje bio detaljno pismeno informisan o istom i potpisao saglasnost za učestvovanje. Klinički deo ispitivanja obavljen je na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Pacijenti su podeljeni u dve grupe po principu slučajnog uzorka. Kod pacijenata prve grupe (KKT grupa) kauzalna terapija parodontopatije sprovedena je uobičajenim višeseansnim postupkom. U drugoj grupi pacijenata primenjena je metoda dezinfekcije celih usta (FMD grupa). Uzimanje uzoraka pljuvačke vršeno je savremenom metodom po najvišim standardima SALIVETE® - SARSTEDT (Germany). Sva biohemijska ispitivanja obavljena su u Centru za medicinsku biohemiju Kliničkog centra Srbije. Koncentracija 8hidroksi-2deoksiguanozina u pljuvački je određena enzimskog imunoabsorpcionog testa – ELISA (eng. Enzyme-linked immunoabsorbent assay). U ovoj studiji je korišćen komercijalni ELISA test KOG-200SE, New 8-OHdG Chec ELISA KIT (Japan

Institute for the Control of Aging- JaICA). Koncentracije malondialdehida (MDA) je određivana spektrometrijski uz korišćenje reagensa ALDetect™ (MDA-specific) Lipid Peroxidation assay kit kat. no. BML-AK171-0001 (Enzo Life Sciences). Aktivnost glutation peroksidaze određivana je UV metodom (Paglia i Valentine) uz korišćenje reagensa Ransel firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom*). Aktivnost superoksid dismutaze je merena enzimskom kolorimetrijskom metodom uz korišćenje reagensa Ransel firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom*). Ukupni antioksidativni status u pljuvački meren je kolorimetrijskom metodom. Korišćen je reagens Total Antioxidant Status (TAS) firme Randox (*RANDOX Laboratories Ltd., United Kingdom*). Pri obeležavanju uzoraka vođeno je računa o tajnosti podataka.. Naime, kodeks šifara je bio nepoznat laborantima, a uzorci su šifrirani slovno i brojčano. Za ova istraživanja odobrena je saglasnost od strane Etičkog komiteta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, (Broj 36/36 ; 201.).

**Rezultate istraživanja** dr Nada Novaković izložila je sistematično i dokumentovano i u skladu sa preciziranom metodologijom. Rezultati su sistematizovani u tri podpoglavlja i zauzimaju najviše mesta u rukopisu i u skladu su sa postavljenim istraživačkim zadacima.

U prvom delu su prikazani rezultati kliničkih ispitivanja. Rezultati vezani za demografske podatke su dati pregledni i sistematično. U ovom istraživanju korišćeni su sledeći klinički parametri:

1. plak indeks po Silnes- Lou (Silness- Løe) - Vrednosti plak indeksa po Silnes-Lou (Silness- Løe) izmerene u ovom istraživanju su u KKT grupi:  $2.34 \pm 0.64$  pre sprovedene terapije i  $1.36 \pm 0.59$  posle terapije, a u FMD grupi  $2.37 \pm 0.59$  pre i  $1.48 \pm 0.67$  Vrednosti plak indeksa se statistički značajno smanjuju posle sprovedene terapije kod obe grupe pacijenata ( $p < 0.01$ ).

2. indeks krvarenja na provokaciju ( modifikovani Muhlemann-Sonn)- kako je ustanovljeno na prvom pregledu iznosio je  $1.46 \pm 0.49$  u KKT i  $1.96 \pm 0.62$  u FMD grupi . Posle sprovedene kauzalne terapije parodontopatije vrednost ovog indeksa bila je  $0.92 \pm 0.44$  u KKT i  $0.98 \pm 0.42$  u FMD grupi što predstavlja statistički značajno smanjenje vrednosti  $p < 0.01$  u obe grupe ispitanika.

3.gingivalni indeks po Lou- Silnesu (Løe-Silness) - Gingivalni indeks po Lou-Silnesu (Løe-Silness), pre sprovedene terapije imao je vrednosti  $1.97 \pm 0.47$  u KKT grupi i  $2.97 \pm 0.65$  u FMD grupi. Posle sprovedene terapije vrednosti ovog indeksa iznosile su  $1.27 \pm 0.50$  u KKT i  $1.39 \pm 0.52$  u FMD grupi. Smanjenje vrednosti ovog indeksa je statistički značajno kod obe grupe ispitanika,  $p < 0.01$ .

4. dubina sondiranja \_ dubina sondiranja kod pacijenata uključenih u ovo istraživanje pre terapije u KKT grupi iznosila je  $4.59 \pm 0.64$ mm, a u FMD grupi  $4.78 \pm 0.85$ mm. Posle sprovedene kauzalne terapije došlo je do statistički značajnog smanjenja dubine parodontalnih džepova na  $3.19 \pm 0.69$ mm u KKT grupi, i na  $2.95 \pm 0.85$  u FMD grupi ( $p < 0.01$  za obe grupe).

9. Nivo pripojnog epitela na prvom pregledu pacijenata u KKT grupi iznosio je  $2.67 \pm 0.93$  mm, a u FMD grupi  $2.53 \pm 0.88$  mm. Vrednosti nivoa pripojnog epitela posle sprovedene terapije nisu se značajnije promenile ni u jednoj grupi i iznosile su  $2.62 \pm 0.88$  mm u KKT grupi i  $2.36 \pm 0.66$  mm u FMD grupi, (p>0.05).

U drugom delu prikazani su rezultati biohemijskih ispitivanja. U ovoj studiji mereni su sledeći biohemijski parametri: 8hidroksi2deoksiguanozin (8OHdG) i malondialdegid (MDA), kao i aktivnost glutation peroksidaze (GPX) i superoksid dismutaze (SOD). Određen je i ukupni antioksidativni status pljuvačke (TAS).

1. Izmerena srednja vrednost koncentracije 8OHdG u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je  $0.54 \pm 0.13$  ng/ml, posle terapije  $0.45 \pm 0.11$  ng/ml, a kod ispitanika FMD grupe  $1.78 \pm 1.84$  ng/ml, a posle terapije  $0.69 \pm 0.28$  ng/ml. Nije došlo do statistički značajnog smanjenja koncentracije 8OHdG ni u jednoj grupi ispitanika. Nisu uočene statistički značajne razlike u koncentraciji 8OHdG pljuvačke između KKT grupe i FMD grupe pre terapije.

2. Srednja vrednost koncentracije malondialdehida u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je  $1.18 \pm 0.28$  μmol/ml, po završenoj terapiji  $1.85 \pm 1.53$  μmol/ml. Srednja vrednost koncentracije MDA kod ispitanika FMD grupe iznosila je  $1.40 \pm 0.47$  μmol/l pre terapije, a posle terapije  $1.19 \pm 0.49$ . Postoji statistički značajno povećanje koncentracije malondialdehida u pljuvački pacijenata posle sprovedene terapije parodontopatije u obe grupe ispitanika (p=0.001).

3. Srednja vrednost aktivnosti glutation peroksidaze koju smo merili u pljuvački ispitanika u ovom istraživanju iznosila je u KKT grupi  $4.33 \pm 2.26$  U/l pre i  $4.38 \pm 2.29$  U/l posle terapije, a u FMD grupi,  $5.40 \pm 0.17$  U/l pre i  $5.48 \pm 0.16$  U/l posle terapije. Nije zabeleženo statistički značajno povećanje aktivnosti ovog enzima posle sprovedene terapije ni u jednoj grupi ispitanika (p>0.01).

4. Srednja vrednost aktivnosti superoksid dismutaze u pljuvački pacijenata KKT grupe pre terapije iznosila je  $1.59 \pm 2.23$  U/l, a posle završene terapije  $1.47 \pm 2.15$  U/l. Srednja vrednost aktivnosti SOD u pljuvački FMD grupe iznosila je  $0.41 \pm 0.14$  U/l pre i  $0.34 \pm 0.11$  posle terapije. Nije zabeleženo statistički značajno povećanje aktivnosti ovog enzima posle završene kauzalne terapije parodontopatije (p>0.05).

5. Određen je i ukupni antioksidativni status u pljuvački pacijenta (TAS). Kod pacijenata KKT grupe njegova srednja vrednost iznosila je  $0.402 \pm 0.14$  μmol/l pre terapije,  $0.29 \pm 0.13$  μmol/l posle terapije. U FMD grupi zabeležena je srednja vrednost vrednosti od  $0.06 \pm 0.03$  μmol/l pre i  $0.25 \pm 0.17$  μmol/l. Postoji statistički značajno povećanje ukupnog antioksidativnog kapaciteta pljuvačke posle sprovedene terapije kod obe grupe ispitanika, p<0.05.

U trećem delu podpoglavlju prikazani su korelacije kliničkih i biohemijskih parametara. Pre sprovedene terapije statistički značajne korelacije nađene su u obe

grupe ispitanika za vrednosti GI i 8OHdG, GI i TAS, KNP i MDA, NPE i SOD, KNP i 8-OHdG, NPE i TAS; nakon sprovedene terapije statistički značajne korelacije u grupi KKT su nađene za vrednosti GI i 8OHdG, NPE i 8-OHdG, KNP i GPx, KNP i SOD a u FMD grupi: PI i SOD, KNP i 8-OHdG, DS i GPx.

U sledećem poglavlju doktorske disertacije (**Diskusiji**) dr Nada Novaković komentariše svoja istraživanja u tri odvojena dela. U uvodnom delu diskusije komentariše metodologiju istraživanja i razloge zašto se odlučila za ovo istraživanje, mišljenja i stavove brojnih autora o ovakvim istraživanjima, kao i o prednostima i teškoćama ovakvih istraživanja.

U sledeća dva dela autor komentariše rezultate istraživanja u kojima ističe aktuelnost istraživanja i saglasnost velikog broja rezultata sa nalazima drugih autora. Posebno se ističe da ispitivanjem korelacije nivoa pokazatelja oksidativnog stresa i antioksidanasa u pljuvački sa pokazateljima kliničkog stanja parodontijuma bi mogao da se prepostavi značaj navedenih analiza u dijagnostici, prognostici i praćenju rezultata lečenja obolelih od hronične parodontopatije. Kako je konzervativna terapija prvi i najvažniji korak u lečenju obolelih od parodontopatije važno je porediti rezultate različitih pristupa ovoj fazi lečenja. Do sada vršena poređenja nisu uspela da pokažu značajne razlike između rezultata kauzalne terapije rađene po principu dezinfekcije celih usta i tradicionalnog višeseansnog protokola u ovoj terapiji. Ovo istraživanje pokazuje da su i na biohemijском nivou potvrđene razlike koje su uočene poređenjem kliničkih parametara. Autor ovog istraživanja se slaže sa do sada važećim stavom da izbor metoda konzervativnog lečenja obolelih od hronične parodontopatije zahteva individualni pristup. Rezultati ove i prethodnih studija ukazuju na nesumnjivu povezanost nivoa oksidativnog stresa i antioksidanasa pljuvačke sa intenzitetom inflamacije u parodontijumu. Ovakvi nalazi bi mogli biti značajni za bolje razumevanje patogenete parodontopatije, uvođenje novih dijagnostičkih mera kojima bi se otkrilo postojanje parodontopatije u najranijoj fazi, ali i za poređenje rezultata različitih metoda lečenja ovog oboljenja.

Treba napomenuti da je i ovo poglavlje napisano vrlo pregledno, usmereno prema postavljenim ciljevima i komentarisano u odnosu na vrstu istraživanja i na primenjenu metodologiju.

Na osnovu primenjene metodologije i dobijenih rezultata dr Nada Novaković iznosi precizne zaključke usaglašene sa ciljevima istraživanja.

Stoga, izvedeni zaključci predstavljaju naučno argumentovan doprinos razrešavanju ispitivane problematike.

Najzad, sastavni deo doktorske disertacije je i poglavlje sa 137 citiranih referentnih bibliografskih navoda (**Literatura**), sa brojnim rezultatima domaćih i inostranih istraživanja bitnih za proučavanu tematiku.

Na osnovu svega iznetog, komisija donosi sledeći

## ZAKLJUČAK I PREDLOG

Doktorska disertacija dr Nade Novaković predstavlja dobro dokumentovanu kliničku i laboratorijsku studiju o uticaju različitih pristupa konzervativnoj terapiji obolelih od parodontopatije na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke. Istraživanje koleginice Novaković je jedno od retkih koja se na molekularnom nivou bave analizom efekta metode dezinfekcije celih usta kao novijeg pristupa konzervativnom lečenju obolelih od hronične parodontopatije.

Postavljeni problem istraživanja je sistematično proučen primenom adekvatnih naučnih metoda, a dobijeni rezultati, precizno statistički obrađeni, protumačeni i interpretirani logično i u skladu s postavljenim ciljevima.

Na osnovu detaljnog i kompletnog pregleda podnetog rukopisa, komisija zaključuje da je autor studiozno, dokumentovano i sistematski obradio postavljene zadatke svoje doktorske disertacije, primenjujući odgovarajuće naučne metode i doprinoseći na taj način stomatološkoj nauci i struci. Stoga, komisija sa zadovoljstvom, predlaže Naučno-nastavnom veću Stomatološkog fakulteta u Beogradu da rukopis sa naslovom: „ **Uticaj različitih metoda konzervativnog lečenja obolelih od hronične parodontopatije na oksidativni stres i antioksidativni status pljuvačke**“ dr Nade Novaković prihvati kao rad za sticanje zvanja doktora nauka.

### ČLANOVI KOMISIJE:

1. \_\_\_\_\_

(Prof. dr Saša Janković, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu)

2. \_\_\_\_\_

(Prof. dr Zoran Aleksić, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu)

3. \_\_\_\_\_

(Prof. dr Ljiljana Janković, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu)

4. \_\_\_\_\_

( prim. dr sc Emina Čolak, naučni saradnik, Centar za medicinsku biohemiju, Klinički centar Srbije)