

Оцена готове докторске тезе

НАСТАВНО - НАУЧНОМ ВЕЋУ МЕДИЦИНСКОГ ФАКУЛТЕТА ВМА УНИВЕРЗИТЕТА ОДБРАНЕ

На 25. Седници Наставно-научног већа Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране одржаној 25.12.2014. године одређена је комисија за оцену готове докторске тезе ВС мр сц Александре Петковић-Ђурчин из Института за медицинска истраживања чија тема гласи: „ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА ЦИТОКИНЕ И ЛОКАЛНОГ ИМУНСКОГ ОДГОВОРА СА ФАКТОРИМА РИЗИКА У НАСТАНКУ ПЕРИИМПЛАНТИТИСА“.

Комисија у саставу : ВС проф. др Звонко Магић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, мј доц др Зоран Татић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, ВС проф др Данило Војводић, Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду, ВС доц.др Драгана Даковић Медицински факултет Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду и доц др Катарина Зељић, Биолошки факултет Универзитета у Београду је прегледала урађени докторски рад кандидата и Наставно-научног већу подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

1. ПРИКАЗ САДРЖАЈА ДОКТОРСKE ТЕЗЕ

Докторски рад мр сц Александре Петковић-Ђурчин написан је на 171 страна текста и подељен је на следећа поглавља: УВОД (47 страна), ХИПОТЕЗА И ЦИЉЕВИ (2 стране),

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ (12 страна), РЕЗУЛТАТИ (35 страна), ДИСКУСИЈА (40 страна), ЗАКЉУЧЦИ (3 стране) и ЛИТЕРАТУРА (16 страна). Резултати су документовани са 27 слика, 20 табела и 15 графика. У докторској дисертацији је цитрано 226 изворних литературних података.

2. КРАТАК ОПИС ПОСТИГНУТИХ РЕЗУЛТАТА

У докторском раду кандидаткиње мр сц Александре Петковић-Ђурчин представљени су резултати истраживања које је спроведено у оквиру НИ задатка Војномедицинске академије у Београду под називом „Удруженост полиморфизама гена за цитокине са током и исходом периимплантитиса“. Овај пројекат је одлуком ННВ бр.3/512 од 29.10.2009. године одобрен за реализацију под шифром ВМА 10-12-А.1 а за руководиоца пројекта одређен је пук проф Новак Стаматовић са Клинике за стоматологију. Тема истраживања припада области оралне медицине.

У **уводу** је дат преглед досадашњих сазнања о денталним имплантатима и периимплантитису као једној од компликација која се може појавити након уградње денталних имплантата, а која утиче на његову стабилност и одржање у кости вилица. Развој савремене стоматологије има за последицу константно повећање броја очуване дентиције односно доводи до већег броја парцијално беззубе популације. У зависности од стања постојећих зуба, ове пацијенте је могуће збринути мобилним или фиксним протетским радовима. Предност се даје фиксним надокнадама, али они се у једном броју случајева не могу изградити без примене денталних имплантата. Понекад се јавља запаљење потпорних ткива имплантата, односно развија се периимплантитис што је и тема овог истраживања. Клиничке студије су показале да периимплантитис може довести до неуспеха и губитка имплантата. Фактори ризика укључују присуство микроорганизама односно плака, пушење и неке локалне факторе који се тичу неповољне дистрибуције и деловања сила жвакања на протетски рад. Иако су ове студије дале значајан допринос за објашњење неуспеха имплантације, постоје и такви случајеви код којих се не може губитак имплантата објаснити искључиво клиничким факторима. Описани процеси

инфламације су покренути као резултат реакције периимплантатног ткива на бактеријску инфекцију. Имајући у виду да периимплантитис представља мултифакторско обољење комплексне етиологије које настаје садејством имунолошких, микробиолошких и генетичких фактора, у уводном делу су описани сви аспекти овог обољења. Увод обухвата три сегмента. Први се односи на оралну имплантологију, други на имунолошки аспект периимплантитиса и трећи на генетички аспект периимплантитиса. У склопу имунолошког сегмента праћена је локална продукција цитокина у периимплантатној течности (PICF) код здравог ткива и ткива са периимплантитисом. У склопу генетичког разматрање су индивидуалне варијације у локалној продукцији кључних инфламаторних и антиинфламаторних медијатора, засноване на полиморфизму гена за цитокине. Идентификација специфичних гена који утичу на предиспозицију и појаву периимплантитиса могла би имати дијагностичку и терапеутску вредност.

Савремена истраживања су показала да је генетичка основа веома важна за многобројна обољења укључујући и пародонтопатију и периимплантитис. Утицај генетичке варијабилности на периимплантитис може да варира од тога да детерминише обољење до тога да има минорне ефекте на етиологију. Индивидуалне варијације у локалној продукцији кључних инфламаторних и антиинфламаторних медијатора, засноване на полиморфизму гена за цитокине могли би да буду предиспонирајући фактори за протективни или неконтролисани инфламаторни одговор након уградње денталних имплантата.

Кроз проспективну клиничку студију пресека, на основу расположивих података из литературе испитиване су **хипотезе**

1. Присуство мутираних генотипова испитиваних гена за цитокине (TNF α ₋₃₀₈, IL1 α , CD14₋₁₅₉, IL6₋₁₇₄, IL10₋₁₀₈₂) је удружено са повећаним ризиком за настанак периимплантитиса код испитаника са уграђеним денталним имплантатима
2. Локална продукција цитокина је повезана са мутираним генотиповима и повећаном склоношћу ка периимплантитису код испитаника са уграђеним денталним имплантатима

У овом докторском раду кандидаткиња је ради провере хипотеза формулисала следеће **циљеве истраживања**:

1. Утврдити учесталост генотипова за цитокине $TNF\alpha_{-308}$, $IL6_{-174}$, $IL10_{-1082}$, $IL1\ \alpha$, и $CD14_{-159}$, у групи испитаника са периимплантитисом, и у групи контрола у којој се налазе испитаници са имплантатима без периимплантитиса
2. Утврдити да ли постоји повезаност између учесталости генотипова и алела анализираних полиморфизама гена за $TNF\alpha_{-308}$, $IL1\ \alpha$, $CD14_{-159}$, $IL6_{-174}$ и $IL10_{-1082}$ са развојем и прогресијом периимплантитиса
3. Утврдити да ли постоји повезаност генотипова са факторима ризика који доводе до повећане склоности ка периимплантитису
4. Одредити локалну продукцију цитокина ($IL12$, $INF\gamma$, $IL2$, $IL4$, $IL5$, $IL6$, $IL8$, $IL10$, $IL1\beta$, $TNF\ \alpha$, $TNF\beta$) у узорцима течности периимплантатног сулкуса у групи испитаника са периимплантитисом и у групи без периимплантитиса
5. Утврдити повезаност између детектованих концентрација цитокина у узорцима PICF и фактора ризика за склоност ка периимплантитису
6. Испитати да ли постоји повезаност између полиморфизама гена за $TNF\alpha_{-308}$, $IL6_{-174}$ и $IL10_{-1082}$ гена и концентрације одговарајућих цитокина у узорцима PICF

У поглављу **Материјал и методе** кандидаткиња је јасно и детаљно представила дизајн истраживања, начин узимања и обраде узорка. Проучавана студијска група је обухватала 98 испитаника са уграђеним денталним имплантатима подељених у две групе: група са здравим периимплантатним ткивом, као и она са дијагностикованим периимплантитисом. Студију је одобрио Етички комитет Војномедицинске академије у Београду и у њу су укључени испитаници са уграђеним денталним имплантатима са Одељења за имплантологију, Клинике за стоматологију ВМА који су имали фиксни протетски рад. Бележени су клинички параметри присуства или одсуства запаљења ткива око имплантата (Индекс крварења, Плак индекс (по Silness Lou; 0-3), Гингивални индекс (по Lou Silness; 0-3) и дубина периимплантатног џепа у 6 тачака (мезио-букална, мезио-лингвална, средишња лингвална, дисто лингвална, дисто булална, средишња булална). Код

испитаника обе групе регистровани су и додатни параметри као што су навика пушења, конзумирање алкохола и анамнестички је се регистрован узрок губитка зуба ради утврђивања склоности ка пародонтопатији.

Од сваког испитиваног пацијента је узета периферна крв (за полиморфизме) и периимплантатна течност (PICF) из гингивалног сулкуса за детекцију локалне продукције цитокина. Концентрација цитокина (IL1 β , IL2, IL4, IL5, IL6, IL8, IL10, IL12, IFN γ , TNF α и TNF β) детектована је комерцијалним цитофлуориметријским тестом (Bender Medsystems flowcitomix multiplex test kit, BMS 810 FF, USA).

Изолована ДНК из крви се користила за генотипизацију анализираних полиморфизама (TNF α -308, IL1 ra, CD14-159, IL6-174 и IL10-1082). У случају TNF α -308, IL1 ra, и CD14-159 полиморфизама, генотипизација је рађена PCR-RFLP методом, док је за генотипизацију IL6-174 и IL10-1082 коришћена метода алелске дискриминације на Real-time PCR апарату (ABI PRISM 7500).

Начин узимања и обрада узорака као и методе које су коришћене за проверу постављене хипотезе и реализацију циљева су јасно и детаљно описане.

У обради података коришћен је статистички програм SPSS. За опис параметара од значаја у зависности од њихове природе коришћене су мере дескриптивне статистике: учесталости, проценти, средње вредности, медијана, стандардна девијација. У циљу испитивања статистички значајних разлика између аритметичких средина нумерички изражених варијабли коришћен је Студентов Т тест и Mann Whitney тест. Одређивање постојања разлике у дистрибуцији полиморфизама за анализирани ген код различитих група испитаника вршено је Пирсоновим Хи-квадрат (χ^2) тестом. Вредности добијене χ^2 тестом интерпретиране су применом интервала поверења од 95% ($p < 0,05$ је статистички значајно).

У циљу провере постојања релативног ризика за развој склоности ка периимплантитису у односу на генотипске варијанте анализираних полиморфизама, одређиван је odds ratio (OR) са интервалом поверења од 95% (Engl. Confidence Interval-CI 95%), уз коришћење *wild type* генотипа као референтне групе. Разлике у учесталости генотипова између испитаника са периимплантитисом и контролне групе, као и одступања учесталости генотипова у контролној групи од очекиване која је добијена тестирањем Hardy-Weinberg-

ове равнотеже је процењивано Pearsonovim или уколико је захтевао узорак Fisherovim тестом.

За идентификацију фактора од значаја за развој склоности ка периимплантитису (сви испитивани фактори ризика и полиморфизми гена) коришћена је логистичка регресиона анализа.

Добијени **резултати** показују да постоје значајне разлике у дистрибуцији генотипова за проучаване полиморфизме CD14, IL6, IL10 и TNF α између групе са периимплантитисом и контролне групе без периимплантитиса.

Статистички значајне разлике у дистрибуцији алела између испитиваних група забележена је у случају CD14₋₁₅₉ ($p=0,003$), IL6₋₁₇₄ ($p<0,0001$) и TNF α ₋₃₀₈ ($p<0,0001$). Није пронађена статистички значајна веза између анализираних полиморфизама у CD14₋₁₅₉, IL6₋₁₇₄, TNF α ₋₃₀₈, IL10₋₁₀₈₂ и IL1 га генима и клиничко-патолошких одлика пацијената. Резултати имунолошких испитивања су показали да постоје различити профили локално продукованих медијатора код испитаника без знакова периимплантитиса и код испитаника са манифестним периимплантитисом што такође има важну улогу због праћења цитокинског профила и могућности предвиђања упале пре него што настане клинички манифестни периимплантитис. Мултиваријантном анализом показано је да је гингивални индекс статистички значајан фактор ризика за настанак периимплантитиса. Концентрације детектованих цитокина су биле у корелацији са клиничким параметрима плак индексом, гингивалним индексом и дубином цепа периимплантатног сулкуса. Праћен је и локални имунски одговор ткива према типу уграђеног имплантата. Установљено је да је настанак клинички манифестне упале у периимплантатном ткиву изменио профиле локално продукованих медијатора. На нивоу целокупне студијске групе, која укључује испитанике са и без периимплантитиса, није уочено постојање корелације генотипа анализираних полиморфизама TNF α , IL6 и IL10 и медијане концентрације сва три испитивана локално продукована цитокина.

3. ОЦЕНА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

У поглављу **Дискусија** кандидаткиња је детаљно коментарисала добијене резултате у светлу постојећих података из литературе о денталним имплантатима, генетичким полиморфизмима који су истраживани на испитаницима са периимплантитисом, као и о изучаваном локалном имунском одговору у периимплантатном ткиву. Урађена истраживања су оригинална и представљају својеврсни мултидисциплинарни приступ у области оралне имплантологије. Применом савремених генетичких метода добијени су подаци о учесталости генотипова и алела у нашој популацији који би могли да имају потенцијалну улогу у склоности ка периимплантитису. Резултати имунолошких испитивања су показали да постоје различити профили локално продукованих медијатора код испитаника без знакова периимплантитиса и код болесника са манифестним периимплантитисом. Ово је указало на важност праћења цитокинског профила у циљу предвидвијања клинички манифестне упале, односно уочавање почетка развоја периимплантитиса. Добијени подаци би могли указати на важност генетичких тестова и развој боље стратегије интервенисања у случају особа код којих постоји већа предиспозиција за обољевање, при чему посебно треба нагласити значај превентивних мера за настанак периимплантитиса.

У поглављу **Закључци**, кандидаткиња сумира добијене резултате из докторске дисертације. Добијени резултати су били у корелацији са клиничким карактеристикама периимплантитиса и факторима ризика за настанак обољења.

Модерна имплантолошка истраживања треба да имају за циљ проналажење и развој метода којима ће моћи да се предвиди биолошка реакција ткива пацијената пре имплантолошке хируршке интервенције.

Закључно мишљење и предлог Комисије:

Докторски рад ВС мр сц Александре Петковић-Ђурчин из Института за медицинска истраживања чија тема гласи: „ПОВЕЗАНОСТ ПОЛИМОРФИЗАМА ГЕНА ЗА ЦИТОКИНЕ И ЛОКАЛНОГ ИМУНСКОГ ОДГОВОРА СА ФАКТОРИМА РИЗИКА У НАСТАНКУ ПЕРИИМПЛАНТИТИСА“ представља оригинални научни рад из области оралне медицине у оквиру имплантологије. Ова клиничка студија је одобрена од стране Етичког комитета. Докторски рад је написан систематично и јасно. Добијени резултати истраживања могу имати значај у дијагностиковању клинички неманифестног запаљења. Тиме би се створио основ за једноставније лечење и превенцију настанка болести.

С обзиром да кандидаткиња испуњава све законске услове за одбрану рада предлажемо Наставно-научном већу ВМА да овај рад прихвати као завршни докторски рад и омогући њену јавну одбрану.

4. РАДОВИ И САОПШТЕЊА У КОЈИМА СУ ОБЈАВЉЕНИ РЕЗУЛТАТИ ДОКТОРСКОГ РАДА

А. Радови у целости

- 1. M22:** Petković A, Matić S, Stamatović N, Vojvodić D, Todorović T, Lazić Z, Kozomara R. Proinflammatory cytokines (IL1 β and TNF α) and chemokines (IL8 and MIP-1 α) as markers of peri-implant tissue condition. *Int. J Oral Maxillofac. Surg.* 2010; 39:478-485.

IF=1,302

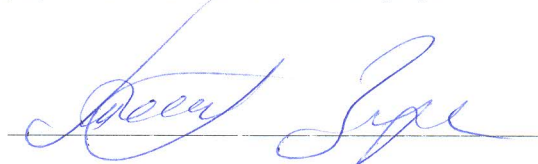
- 2. M21:** Rakic M, Struillou X, Petkovic-Curcin A, Matic S, Canullo L, Sanz M, Vojvodic D. Estimation of Bone Loss Biomarkers as a Diagnostic Tool for Peri-Implantitis. *J Periodontol.* 2014 May 30:1-12.

IF = 3.688

КОМИСИЈА:



Председник комисије: Проф.др Звонко Магић, Медицински факултет ВМА



Ментор мј доц др Зоран Татић, Медицински факултет ВМА-



Проф.др Данило Војводић, Медицински факултет ВМА



Доц.др Драгана Даковић, Медицински факултет ВМА



Доц.др Катарина Зељић, Биолошки факултет у Београду