

**УНИВЕРЗИТЕТУ КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**

**1. Одлука Наставно-научног већа Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Наставно-научног већа Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, број 01-5586/3-7 03.06.2015. године, именовани су чланови Комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Жана Поповић под називом: „Утицај терапије агресивне пародонтопатије на ниво интраћелијских ензима у пљувачки“ .

Чланови комисије су:

**Проф. др Злата Бркић**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина, председник;

**Проф. др Слободан Јанковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација, члан;

**Проф. др Иванка Зелен**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан.

На основу увида у приложену документацију, комисија подноси Научно-Наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи:

**2. Извештај о оцени научне заснованости теме докторске дисертације**

Кандидат др **Жана Поповић**, испуњава све формалне услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука у Крагујевцу за пријаву теме докторске дисертације.

**2.1. Кратка биографија кандидата**

Жана Поповић (рођена Бојић) рођена је 11.12.1980. у Сарајеву . Средњу школу, Природно-математичку гимназију, завршила је у Суботици са одличним успехом. Студије стоматологије уписала је 1999/2000. године, на Стоматолошком факултету Универзитета у Београду. Дипломирала је 2006.године .

01.09.2009 године уписала је Специјалистичке студије из области Пародонтологија и орална медицина на Медицинском факултету ВМА Универзитета одбране у Београду које је успешно завршила 11.09.2012. године.

Школске 2009/2010. године уписала је докторске студије на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, одсек клиничка и експериментална хирургија на ком је положила све испите и усмени докторски испит.

Од 25.12.2007 године запослена је у Стоматолошкој поликлиници „*Dental protection*“ у Подгорици, Црна Гора. У периоду 01.09.2006-01.09.2007 обавља волонтерски рад у Студентској стоматолошкој поликлиници, Београд.

Члан је Лјекарске коморе Црне горе, Пародонтолошке секције Републике Србије.

## **2.2 Наслов, предмет и хипотезе докторске дисертације**

**Наслов:** „Утицај терапије агресивне пародонтопатије на ниво интраћелијских ензима у пљувачки“

**Предмет:** „Утврђивање утицаја терапије агресивне пародонтопатије на ниво интраћелијских ензима у пљувачки“

### **Хипотезе:**

- 1.Ниво интраћелијских ензима аспартат аминотрансферазе (*AST*), аланин аминотрансферазе (*ALT*), киселе фосфатазе (*ACP*), и алкалне фосфатазе (*ALP*) у пљувачки је повећан у особа са агресивном пародонтопатијом у односу на ниво истих у особа са здравим пародонцијумом.
- 2.Ниво интраћелијских ензима аспартат аминотрансферазе (*AST*), аланин аминотрансферазе (*ALT*), алкалне фосфатазе (*ALP*) и киселе фосфатазе (*ACP*), у пљувачки особа са агресивном пародонтопатијом је смањен након завршене пародонтолошке терапије.
- 3.Постоји позитивна корелација наведених биохемијских параметара са клиничким параметрима стања пародонцијума код пацијената са агресивном пародонтопатијом пре и након спроведене пародонтолошке терапије

## **2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације**

2.3.1. Кандидат Жана Поповић је као први аутор објавила рад у целини у часопису који излази на једном од светских језика.

*Popović Ž, Brkić Z, Anđelski-Radičević B, Miličić B, Dožić I. Analysis of intracellular enzymes in saliva of patients with aggressive periodontitis. Serbian Dental Journal 2013;60(3): 155-160.*

**M52- 1,5 бод**

Кандидат је учествовао на више међународних и домаћих научних конференција.

## **2.4. Преглед стања у подручју истраживања**

Агресивна пародонтопатија је редак, тежак, брзо напредујући облик обољења са клиничким манифестацијама и губитком зуба у раној животној доби. Клиничка мерења су од малог значаја у благовременом откривању субклиничких почетних форми обољења што је неопходно у случају агресивних форми пародонталне болести. Тешкоће у откривању субклиничких форми обољења и терапији су разлог лоше прогнозе обољења и малог броја истраживања у овој области.

Одређивање биохемијских маркера у пљувачки може допринети откривању патолошких процеса у пародонцијуму у току пародонтопатије.

Подаци из литературе показују да је концентрација унутраћелијских ензима који су одговорни за одигравање метаболичких процеса у ћелијама знатно повећани у пљувачки особа оболелих од пародонтопатије у односу на здраве људе. Неке студије су описале да је активност аминотрансфераза и алкалне фосфатазе повећана у пљувачки оболелих од хроничне пародонтопатије али врло мало има података о њиховом нивоу у пљувачки оболелих од агресивне пародонтопатије.

## 2.5 Значај и циљ истраживања

Истраживање треба да допринесе бољем разумевању и стандаризацији биомаркера у пљувачки који би били од користи за помоћ у дијагностиковању агресивне пародонтопатије. Уколико се открије повећан ниво интраћелијских ензима у пљувачки, био би значајан биохемијски показатељ присутног акутног патолошког процеса у пародонталном ткиву. Такође ови ензими могу бити показатељи степена активности пародонтопатије, ако се покаже позитивна корелација између нивоа ових ензима у пљувачки и вредности клиничких параметара. Смањење нивоа појединих ензима у пљувачки, након примењене пародонталне терапије могло би бити од користи у процени успешности лечења овог обољења.

Такође узимање биолошког материјала - пљувачке за анализу је једноставно и безболно за пацијенте. То је од изузетне предности у случају плашљивих пацијената, пацијената са посебним потребама, пацијената са крвним дискразијама и тежим системским обољењима, како би се повећала успешност у лечењу и спречио превремен губитак зуба.

### Циљеви

1. Установити разлике у нивоу интраћелијских ензима аспартат аминотрансферазе (*AST*), аланин аминотрансферазе (*ALT*), алкалне фосфатазе (*ALP*), киселе фосфатазе (*ACP*) и електролита (*Ca, P*) између контролне групе испитаника (са клинички здравим пародонцијумом) и експерименталне групе пацијената (оболелих од агресивне пародонтопатије) пре почетка терапије.
2. Установити разлике у нивоу интраћелијских ензима аспартат аминотрансферазе (*AST*), аланин аминотрансферазе (*ALT*), алкалне фосфатазе (*ALP*), киселе фосфатазе (*ACP*) и електролита (*Ca, P*) код пацијената експерименталне групе пре и након спроведене базичне и хируршке терапије пародонтопатије.
3. Установити корелацију наведених биохемијских параметара са клиничким параметрима стања пародонцијума (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела) унутар групе пацијената са агресивном пародонтопатијом пре и након спроведене базичне и хируршке терапије пародонтопатије.

## 2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Агресивна пародонтопатија је тежак, брзо напредујући облик пародонтопатије са клиничком манифестацијом и губитком зуба у раној животној доби. Клиничка мерења су корисна за дијагнозу развијених облика обољења, али пружају врло ограничене информације у вези са субклиничким формама, прогнозом болести и проценом ефеката примењене терапије.

Анализа биохемијског састава пљувачке представља значајан допунски дијагностички тест код многобројних обољења усне дупље. Као одговор организма на пародонталну инфекцију у пљувачку и гингивалну течност ослобађају се ензими из стромалних, епителних, инфламаторних или бактеријских ћелија. Подаци из литературе указују да су интраћелијски ензими (*AST*, *ALT*) одговорни за одигравање метаболичких процеса у ћелијама, значајно повећани и да се могу доказати у пљувачки особа оболелих од хроничне пародонтопатије.

Такође, истраживања су показала позитивну корелацију између нивоа *AST* и *ALT* у пљувачки и вредности неких клиничких параметара (гингивални индекс, индекс краврења, дубина пародонталног џепа) који представљају показатеље степена оштећења пародонталних ткива и активности пародонталне болести, а који се користе у свакодневној стоматолошкој пракси. Доказано је да се као последица метаболичких промена у инфламираној гингиви алкална фосфатаза (*ALP*) – индикатор оштећења ћелија меког ткива, ослобађа из полиморфонуклеарних ћелија у пљувачку. Истраживања су углавном рађена код пацијената са хроничном пародонтопатијом, а постоји веома мали број литературних података у вези промена нивоа ензима пљувачке код оболелих од агресивне пародонтопатије.

Одређивање нивоа ензима у пљувачки је неинвазивна и за пацијента веома комфорна метода узорковања па је самим тиме лако прихватљива код стоматолошких пацијената. Она даје обједињену информацију о стању пародонталних ткива свих зуба.

## **2.7. Методе истраживања**

Студија ће бити дизајнирана као студија случај-контрола. У прву групу пацијената биће укључене особе које болују од агресивне пародонтопатије, а у другу групу особе са здравим пародонцијумом. Пацијенти ће бити праћени 9 недеља након укључења у истраживање.

### **2.7.1. Популација која се истражује**

Истраживање би обухватило пацијенте који долазе на Клинику са пародонтологијом и оралну медицину на Војномедицинској академији у Београду, који су оболели од агресивне пародонтопатије и код којих је индикована хируршка терапија (експериментална група) као и испитаници који имају здрав пародонцијум (контролна група).

Из студије ће бити искључени сви испитаници, како код експерименталне тако и код контролне групе, са систематским обољењима (кардиоваскуларна, респираторна, малигна итд.), дугорочном терапијом лековима који могу утицати на стање пародонцијума, труднице или пацијенти са неким другим оралним обољењима.

### **2.7.2. Узорковање**

У студију ће бити укључено 60 испитаника који се јаве на преглед на Клинику за пародонтологију и оралну медицину на Војномедицинској академији у Београду. Након добијања писменог пристанка за учешће у студију од стране пацијената, узимају се анамнестички подаци.

Експерименталну групу чиниће 30 пацијената, оболели од агресивне пародонтопатије и код којих је индикована базична и хируршка пародонтолошка терапија, старости између 18-50 год., мушког и женског пола. Стање пародонцијума се утврђује на основу клиничких параметара (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела) чије вредности ће бити уписане у истраживачки картон који је прилагођен потребама истраживања.

Гингивални индекс (*Loe-Silnessov index*) се примењује за оцену стања гингиве са вестибуларне, оралне, мезијалне и дисталне стране сваког присутног зуба. Процена се код овог индекса базира на промени боје, отака и крварења гингиве.

Индекс крварења из сулкуса (*Muhlemann-Sonov index-SBI*) је прецизан и поуздан параметар за процену степена инфламације гингиве. Тестирање се изводи сондирањем гингивалног сулкуса свих присутних зуба тупом пародонталном сондом (*Periodont Sex Cp II*). Контролише се крварење, боја и промена облика гингиве.

Вредност нивоа припојног епитела одређује се мерењем растојања од глеђно-цементне границе до дна пародонталног џепа. За ова мерења користи се градуисана стоматолошка сонда (*Periodont Sex Cp II*).

Дубина пародонталног џепа мери се помоћу градуисане пародонталне сонде (*Periodont Sex Cp II*), тако што се измери растојање од ивице гингиве до дна пародонталног џепа.

За утврђивање индекса меких и чврстих наслага прегледају се површине круница 6 зуба. Помоћу стоматолошке сонде и стоматолошког огледалца одређује се колики је део површине крунице зуба покривен меким и чврстим наслагама и у зависности од тога, сваком зубу се даје одређени број бодова.

Контролну групу чинило би 30 испитаника, који имају здрав пародонцијум и компатибилни су по полу, старости са испитаницима оболелим од агресивне пародонтопатије.

Пљувачка за биохемијске анализе узима се током првог прегледа од испитаника експерименталне и контролне групе и то у преподневним часовима у исто време. Пацијенти не смеју да узимају храну или течност, као ни гуму за жвакање.

Узимање узорака пљувачке вршит ће се помоћу специјалних епрувета "*Salivete*" *Sarstedt* (Немачка), у којима се налази покретни перфорирани пластични уметак. У уметку је памучни или полиестарски уложак који се ставља испод језика пацијента у трајању 2-3 минута. Када се памучни уложак натопи пљувачком враћа се у пластични перфорирани уметак, а епрувета затвара запушачем. Центрифуговање узорака пљувачке врши се у трајању од 10 до 20 минута на 3000-5000 обрт / мин. На овај начин пљувачка се ослобађа муцина и осталих материја које би могле да ометају аналитички поступак. Епрувете са узорцима пљувачке одлажу се у замрзивач на -80° С до анализирања.

Код обе групе испитаника извршићесе мотивација и обука у одржавању оралне хигијене.

На Пацијентима експерименталне групе ће бити спроведена базична терапија пародонтопатије: уклањање меких наслага четкицама и пастом *Vantal* (Галеника),

уклањање чврстих наслага (зубни каменац) ултразвучним апаратом (*Kavo, Sonic flex 2000 N*, Немачка), уклањање субгингивалних наслага и обрада површине корена зуба специјалним киретама (*Gracey, Kohler*, Аустрија), а слободан садржај пародонталног џепа ће бити одстрањен испирањем хлорхексидин диглуконатом (12%). У следећој посети (након 1-5 дана), код ових пацијената урадиће се хируршка терапија (*Widman I Neuman*). На контролном прегледу, 8 недеља након хируршке интервенције, утврдиће се поново стање пародонцијума помоћу клиничких параметара (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела), чије вредности ће бити уписане у истраживачки картон. У овој посети од пацијената ће бити узета и пљувачка према горе наведеној процедури.

#### Лабораторијске анализе

Лабораторијско испитавање ће се састојати из одређивања нивоа интраћелијских ензима, аспартат аминотрансферазе (*AST*), алкалне фосфатазе (*ALP*), аланин аминотрансферазе (*ALT*), киселе фосфатазе (*ACP*) и њеног коштаног изоензима) као и електролита калцијума и фосфата у нестимулисаној мешовитој пљувачки пацијената експерименталне и контролне групе. Активност ензима ће бити анализирана кинетичким методама на спектрофотометру *Secoman Basic* (Француска), према препорукама Интернационалне федерације за клиничку хемију (*International Federation for Clinical Chemistry; IFCC*).

При томе ће бити коришћени фабрички реагенси произвођача *Human* (Немачка). Активност ензима у пљувачки ће бити изражена у интернационалним јединицама (*U/L*). Концентрација калцијума и фосфата у нестимулисаној пљувачки ће бити одређивана колориметријском методом, са комерцијалним реагенсима произвођача *Human* (Немачка). Лабораторијска анализа ће се радити у Лабораторији за биохемију и хематологију, Стоматолошког факултета у Београду.

### 2.7.3 Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле су: демографске карактеристике пацијента (пол, старост, телесна тежина), присуство мукогингивалних аномалија (коронарни припој френулума горње усне, коронарни припој френулума доње усне, коронарни припој френулума језика, коронарни припојлатералних плика слузокоже, уска припојна гингива, плитак вестибулум уста), присуство ортодонтских аномалија (поремећај међувичних односа, поремећај зуба (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела),

Зависне варијабле су: вредности клиничких параметара (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела) код пацијената оболелих од агресивне пародонтопатије након хируршке терапије. Ниво интраћелијских ензима (*AST, ALP, ALT, ACP*) и електролита калцијума и фосфата у нестимулисаној пљувачки код пацијената оболелих од агресивне пародонтопатије након хируршке терапије.

### 2.7.4 Снага студије и величина узорка

Код израчунавања величине узорка руководиће се дизајном истраживања, карактеристикама основног скупа из којег се узорак формира као и примарним циљем истраживања. Ови захтеви обухваћени су: варијабилитетом резултујућег обележја (*ALT, AST, ALP*), идентификацијом истраживачког циља (разлика у вредностима посматраних

ензима између болесних и здравих пре терапије), одређивањем величине ефекта и дизајном студије (да ли су питања поновљена мерења или не).

На основу пилот студије изведене на 15 здравих и 15 оболелих пацијената добијене су разлике у вредностима *AST*, *ALT* и *ALP*, најмања разлика уочена је у вредностима *AST*, такода вредности овог параметра служе су за одређивање потребне величине узорка. На основу разлике у вредностима *AST* између здравих и болесних пре терапије и вредности  $\alpha=0,05$   $\beta=0,2$  ( $\alpha=0,05$  представља ниво значајности,  $\beta=0,2$  показатељ је статистичке моћи теста), израчуната је потребна величина узорка кога би чинило 30 пацијената оболелих од агресивне пародонтопатије и 30 здравих испитаника.

### 2.7.5. Статистичка обрада података

У циљу извођења статистичких тестирања, користиће се статистички програмски пакет *SPSS for Windows* (18.0).

На почетку истраживања све варијабле биће описане класичним дескриптивним методама статистике. Овде посматране нумеричке варијабле описаћемо класичним мерама централне тенденције и мерама варијабилитета: аритметичком средином, медијаном, стандарном девијацијом, минималном и максималном вредношћу. Атрибутивне варијабле описаћемо расподелом учесталости њихових категорија. Приказ добијених резултата биће табеларан и графички.

За поређење атрибутивних обележја посматрања између анализираних група испитаника, користићемо *Pirson-ov*  $\chi^2$  тест (таблице контингенције). Избор тестова за анализу нумеричких обележја посматрања зависиће од природе њихове расподеле која ће бити испитивана коришћењем Когломоров–Смирнов-ог теста. За тестирање разлике између испитаника у посматраним групама, код непараметријских података користићемо *Mann Whitney U* тест а код параметријских *t*-test. Повезаност клиничких и биохемијских параметара испитиваћемо Спирман-овим коефицијентом корелације. Гранична вредност за прихватање хипотезе о постојању разлике између тестираних група у анализираним варијаблима постављена је на  $p < 0,05$ .

### 2.8. Очекивани резултати докторске дисертације

У овом истраживању се очекује утврђивање потенцијалних биохемијских маркера у пљувачки пацијената оболелих од агресивне пародонтопатије. Прегледом литературе, може се закључити да су досадашња истраживања, а посебно на нашим просторима, углавном рађена код оболелих од хроничне пародонтопатије. Очекује се да резултати покажу:

- повећан ниво интраћелијских ензима (*AST*, *ALT*, *ALP*, *ACP*) у пљувачки оболелих од агресивне пародонтопатије у односу на испитанике са здравим пародонцијумом.

- разлику у вредностима клиничких параметара између оболелих и здравих испитаника

- смањење вредности клиничких параметара и нивоа испитиваних ензима у пљувачки оболелих од агресивне пародонтопатије након примењене терапије.

### 2.9. Оквирни садржај дисертације

Агресивна пародонтопатија је тежак, брзо напредујући облик пародонтопатије у раној животној доби. Клиничка мерења су корисна за дијагнозу развијених облика обољења, али пружају врло ограничене информације у вези са субклиничким формама, тако да ћемо се у овом истраживању фокусирати на анализи биохемијског састава пљувачке која може бити значајан допунски дијагностички тест код многобројних обољења усне дупље.

Анализираће се разлике нивоа интраћелијских ензима (*AST, ALT, ALP, ACP*) између оболелих и здравих испитаника, смањење вредности клиничких параметара и нивоа испитиваних ензима у пљувачки оболелих од агресивне пародонтопатијенакон примењене терапије и корелација наведених биохемијских параметара са клиничким параметрима стања пародонцијума (индекс меких наслага, индекс чврстих наслага, гингивални индекс, дубина пародонталног џепа, индекс крварења, ниво припојног епитела) унутар групе пацијената са агресивном пародонтопатијом пре и након спроведене базичне и хируршке терапије пародонтопатије.

## 2.10. Предлог ментора

За ментора рада се предлаже **доц. др Радмила Обрадовић**, доцент Медицинског факултета одсек стоматологија Универзитета у Нишу, за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина.

## 2.11. Научна област дисертације

Стоматологија. Изборно подручје: Пародонтологија

## 2.12. Научна област чланова комисије

**Проф. др Злата Бркић**, ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Пародонтологија и орална медицина, *председник*;

**Проф. др Слободан Јанковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за уже научне области Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација, члан;

**Проф. др Иванка Зелен**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан.



## Закључак и предлог комисије

1. На основу досадашњег научно- истраживачког рада и публикованих радова, кандидат **Жана Поповић**, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације.

2. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, методологија је јасна. Ради се о оригиналном научном делу где се испитује повезаност биохемијских маркера (ензима) у пљувачки пацијената оболелих од агресивне пародонтопатије и клиничких параметара пре и након терапије.

3. Комисија сматра да ће предложена докторска теза **Жане Поповић** бити од великог научног и практичног значаја и да ће допринети бољем разумевању и стандаризацији биомаркера у пљувачки који би били од користи за помоћ у дијагностиковању, одређивању степена активности и процени успешности лечења агресивне пародонтопатије.

4. Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати пријаву теме докторске дисертације кандидата **Жане Поповић** под називом: „Утицај терапије агресивне пародонтопатије на ниво интраћелијских ензима у пљувачки“ и одобри њену израду.

**ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:**

**Проф. др Злата Бркић**

Ванредни професор Медицинског факултета ВМА Универзитета одбране у Београду  
за ужу научну област: Пародонтологија и орална медицина  
Председник комисије

---

**Проф. др Слободан Јанковић**

Редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу  
за ужу научну област: Фармакологија и токсикологија и Клиничка фармација  
Члан

---

**Проф. др Иванка Зелен**

Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу  
за ужу научну област: Биохемија  
Члан

---

У Крагујевцу, \_\_\_\_\_.