

**Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta
Univerziteta u Beogradu**

Na osnovu člana 53. Statuta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Nastavno-naučno veće Stomatološkog fakulteta, na sednici održanoj 05.03.2024. godine, imenovalo je Komisiju u sastavu:

dr Zoran Aleksić, redovni profesor, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Jelena Milašin, redovni profesor, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr Saša Janković, redovni profesor, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

dr sci Ivana Strahinić, naučni savetnik, Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerzitet u Beogradu

za ocenu završene doktorske disertacije pod nazivom „**Komparativna analiza osteoimunoloških i mikrobioloških profila peri-implantnih stanja i oboljenja**”.

Kandidat: **Asist. dr Marija Vučković**

Mentor: **Doc. dr Iva Milinković**, Klinika za parodontologiju i oralnu medicinu, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Na osnovu pregleda priloženog materijala, imenovana Komisija podnosi Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

IZVEŠTAJ

Osnovni podaci o kandidatu

Kandidatkinja dr Marija Vučković (rođena Jezdić) rođena je 28.09.1993. godine u Beogradu. Osnovnu školu i srednju Zubotehničku školu završila je u Beogradu. Diplomirala je 2018. godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, s prosečnom ocenom 8,76 (8,76/10,00). Tokom studija učestvovala je na tri kongresa studenata biomedicinskih nauka Srbije,

dva puta kao autor radova i jednom kao koautor. Pripravnički staž završila je na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu. Stručni ispit za doktora stomatologije položila je 2019. godine, nakon čega je upisala specijalističke studije iz oblasti Kliničke stomatološke nauke, uža oblast: Parodontologija i oralna medicina. Specijalistički ispit iz oblasti Parodontologija i oralna medicina položila je 2022. godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu s odličnom ocenom. Doktorske studije upisala je 2019. godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu i položila sve ispite do sada predviđene planom i programom doktorskih studija s prosečnom ocenom 10,00 (10,00/10,00). Od oktobra 2022. godine, dr Marija Vučković je zaposlena na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta u Beogradu kao saradnik u visokom obrazovanju na predmetima: Osnovi parodontologije, Klinička parodontologija i Oralna medicina, a u julu 2023. postala je asistent na istim predmetima. Član je Udruženja parodontologa Srbije člana Evropske federacije za Parodontologiju (EFP), kao i Evropske Asocijacije za oseointegraciju (EAO). Autor je jednog, a koautor u tri naučno-istraživačka rada objavljena u referentnim časopisima sa SCI liste. Dr Marija Vučković je do sada prezentovala jedan rad kao autor i 5 kao koautor u vidu postera na međunarodnim stručnim kongresima. Završila je sertifikovani bazični kurs iz implantologije u Implantološko-istraživačkom centru Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

1. Sadržaj doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Marije Vučković pod nazivom „**Komparativna analiza osteoimunoloških i mikrobioloških profila peri-implantnih stanja i oboljenja**” napisana je na 85 strana, uz prikaz 14 tabela, 40 slika i 258 referenci iz relevantne naučne literature. Disertacija sadrži: sažetak na srpskom i engleskom jeziku, uvod, hipotezu istraživanja i ciljeve, metodologiju, rezultate, diskusiju, zaključke i spisak literature.

U **uvodu**, kandidatkinja detaljnije opisuje predmet istraživanja doktorske disertacije. Na početku je dat pregled komplikacija koje zahvataju dentalne implantate s akcentom na biološke komplikacije (peri-implantni mukozitis i peri-implantitis), čije je zbrinjavanje trenutno

aktuelna tema u svetu implantologije. Biološke komplikacije su opisane kroz prikaz poslednje klasifikacije parodontalnih i peri-implantnih stanja i oboljenja iz 2017. godine. Dalje, uvod obrađuje saznanja iz eksperimentalnih studija o sličnostima i razlikama između parodontalnih i peri-implantnih oboljenja u pogledu histologije, etiologije i patogenetskih mehanizama. S obzirom da su glavni uzročnici kako parodontalnih, tako i peri-implantnih oboljenja, mikroorganizmi dentalnog biofilma, detaljno je razrađena etiologija oboljenja, odnosno oralni mikrobiom. Dodatno, u nastavku je prikazan i patogenetski mehanizam nastanka peri-implantnih oboljenja koji se ogleda u imunom odgovoru domaćina na štetno dejstvo mikroorganizama i dovodi do aktivacije različitih proinflammatoryh citokina, signalnih puteva kao i medijatora koštane remodelacije, koji su takođe bili predmet ispitivanja ove doktorske disertacije.

Uzimajući u obzir postojeće podatke iz literature, postavljena je **hipoteza** istraživanja: Izmenjeni nivoi ekspresije molekula *Notch* signalnog puta, povećana ekspresija proinflammatoryh citokina i narušen odnos između medijatora koštane remodelacije, kao i veća zastupljenost patogenih mikroorganizama prisutni su kod pacijenata sa peri-implantnim oboljenjima.

Na osnovu hipoteze, jasno su definisani **Ciljevi** istraživanja:

1. U laboratorijskim uslovima, primenom metode kvantitativne lančane reakcije polimeraze u realnom vremenu (engl. *quantitative real time polymerase chain reaction – qPCR*) utvrditi zastupljenost oralnih mikroorganizama (bakterija *Porphyromonas gingivalis* i *Fusobacterium spp*, Epstein-Barr virusa i gljivice *Candida albicans*) u uzorcima peri-implantantne tečnosti uzorkovane kod pacijenata sa peri-implantitisom, peri-implantnim mukozitisom i oko zdravih implantata.
2. Odrediti relativni nivo genske ekspresije molekula *Notch* signalnog puta - receptora *Notch 1* i *Notch 2*, liganda *Jagged 1*, kao i unutarćelijskih molekula *Hes 1* i *Hey 1* u istim uzorcima.

3. Odrediti relativni nivo genske ekspresije proinflamatornih citokina - *TNF- α* , *IL-17*, *IL-1 β* i *IL-6* u istim uzorcima.
4. Odrediti relativni nivo genske ekspresije medijatora koštanog remodelovanja *RANKL* i *OPG*.
5. Utvrditi eventualno postojanje korelacije između nivoa ekspresije ovih molekula i mikroorganizama u navedenim uzorcima.
6. Utvrditi eventualno postojanje korelacije između navedenih mikroorganizama i parodontoloških kliničkih parametara.

U poglavlju **Metodologija** opisan je dizajn studije (kontrolisana prospektivna kliničko-laboratorijska studija), kriterijumi uključenja i kriterijumi isključenja pacijenata. Podela po grupama precizno je definisana spram dijagoze postavljene na osnovu Klasifikacije parodontalnih i peri-implantnih stanja i oboljenja, ustanovljene na svetskoj radionici 2017. godine. Razlikovale su se tri grupe ispitanika – pacijenti sa peri-implantitisom, pacijenti sa peri-implantnim mukozitisom i osobe sa zdravim implantatima. Klinički deo studije sproveden je na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu. Svim pacijentima beleženi su parodontološki klinički parametri, nakon čega je u regiji odabranog implantata uzorkovana peri-implantna cervikalna tečnost, a zatim sproveden nehirurški parodontološki tretman (uklanjanje svih subgingivalnih i supragingivalnih čvrstih i mekih naslaga, kao i obrade parodontalnih i peri-implantnih džepova). Uzorci su dalje analizirani u laboratoriji za humanu genetiku Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu.

Podaci su statistički obrađeni primenom SPSS statističkog paketa (engl. *Statistical Package for Social Science, version 22.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA*).

Rezultati su prikazani u sedam potpoglavlja. U prvom potpoglavlju tabelarno i grafički su predstavljeni demografski podaci. Pokazana je raspodela u odnosu na pol, starost i parodontološki status pacijenata među grupama, kao i funkcija ispitivanih implantata merena u godinama. Drugo potpoglavlje prikazuje kliničke podatke analizirane u okviru svake grupe, kao i među grupama na nivou čitave usne duplje i na nivou implantata. Grafički su ilustrovane njihove statističke razlike, dok su u tabelama prikazane i srednje vrednosti \pm standardne devijacije. U narednom potpoglavlju tabelarno i grafički su prikazani rezultati koji pokazuju zastupljenost ispitivanih patogenih mikroorganizama među grupama. Četvrto potpoglavlje daje podatke o ekspresiji molekula *Notch* signalnog puta kod pacijenata s peri-implantitisom, peri-implantnim mukozitisom i onih sa zdravim implantatima, kao i rezultate međugrupnog poređenja. Na isti način, u sledećem potpoglavlju prikazani su rezultati relativne genske ekspresije proinflamatornih citokina i medijatora koštane remodelacije. Poslednja dva potpoglavlja prikazuju korelacije između ispitivanih parametara. U preposlednjem delu, tabelarno je prezentovana korelacija između mikroorganizama i relativne genske ekspresije molekula *Notch* signalnog puta, proinflamatornih citokina i medijatora koštane remodelacije na nivou čitavog ispitivanog uzorka. Korelacije istih parametara unutar svake grupe zasebno ilustrovane su toplotnim mapama. Poslednje, sedmo, potpoglavlje prikazuje pomoću tabele rezultate ispitivanih korelacija između mikroorganizama i kliničkih parametara.

U okviru **Diskusije** tumačeni su dobijeni rezultati, pozivajući se na relevantna naučna istraživanja koja su se bavila sličnom problematikom. U prvom delu diskutovano je o mikroorganizmima koji igraju ulogu u nastanku parodontalnih i peri-implantnih oboljenja. Prvo je analizirana zastupljenost poznatih parodontopatogena, bakterija *P. gingivalis* i *Fusobacterium spp.*, njihov odnos kao, i uticaj na nastanak samog peri-implantnog oboljenja. Prikazani su rezultati drugih studija koji su bili u skladu sa rezultatima ovog istraživanja u kome je pokazano da su ovi parodontopatogeni značajno zastupljeniji u regiji obolelih implantata. Takođe, analizom i prikazom rezultata različitih istraživanja istaknute su i uloge gljivice *C. albicans* i *EBV*-a. Njihov doprinos detaljnije je istražen u parodontalnim lezijama. Međutim, u malobrojnim studijama koje su se bavile prisustvom ovih mikroba kod peri-implantnih

oboljenja evidentirano je njihovo učešće u etiologiji, ali bez čvrstih dokaza, što ide u prilog i rezultatima ove disertacije u kojima nije pronađena značajna zastupljenost *C. albicans* i *EBV*-a kod obolelih grupa u odnosu na zdravu. Dalje, diskutovani su klinički aspekti peri-implantnih stanja i oboljenja, kao i njihova korelacija sa prethodno pomenutim mikroorganizmima. Značajnu povezanost sa parodontološkim kliničkim parametrima pokazali su *P. gingivalis* i *Fusobacterium*. Prevalenca ovih mikroorganizama bila je srazmerno proporcionalna povećanju dubine sondiranja, gubitku nivoa pripojnog epitela, kao i povećanim vrednostima krvarenja na provokaciju kod obolelih ispitanika. Ovi podaci podudarni su sa prethodno objavljenim istraživanjima. U nastavku ovog poglavlja, dalje se tumače rezultati dobijeni za molekule Notch signalnog puta, proinflamatorne citokine i medijatore koštane remodelacije, kao i njihove korelacije koje se javljaju u zavisnosti od peri-implantnog oboljenja, odnosno stanja. Do sada uticaj Notch signalnog puta i njegova uloga u peri-implantnim oboljenima nije ispitivana. Stoga se, obzirom na sličan etiopatogenetki mehanizam peri-implantnih i parodontalnih oboljenja, kandidatkinja pozivala na istraživanja koja su ovaj signalni put ispitivala kod parodontalnih lezija. Obzirom da ovaj put utiče na koštanu remodelaciju, dobijeni su podudarni rezultati sa drugim studijama kada su oboleli pacijenti u pitanju. Pokazana je smanjena ekspresija *Notch 1* gena zaduženog za promociju koštanog tkiva i povećana ekspresija *Hey 1* gena zaduženog za osteolizu. Dodatno, u ovoj studiji pokazana je i značajno povećana ekspresija proinflamatornih citokina - *TNF- α* , *IL-17*, *IL-1 β* i *IL-6* kod obolelih od peri-implantitisa, što je saglasno sa podacima iz literature. Analiziran je i *RANKL/OPG* odnos, koji je poznat po svom uticaju na koštanu remodelaciju. Dok je *RANKL* zadužen za osetoklastogenezu i utiče na koštanu resorpciju, *OPG* sprečava sazrevanje osteoklasta i na taj način se održava ravnoteža u zdravom tkivu. Međutim, usled prekomerne ekspresije *RANKL* medijatora, smanjena je ekspresija *OPG*-a i dolazi do koštane resorpcije. Ovakav obrazac detektovan je u grupi pacijenata sa peri-implantitisom. Takođe, podaci iz literature ukazuju na sinergističko dejstvo ovih koštanih medijatora i proinflamatornih citokina usled čega dolazi do destrukcije koštanog tkiva kod ovog oboljenja. Povećani nivoi genske ekspresije medijatora ispitivanih u ovoj studiji, kao i njihove međusobne korelacije i korelacije sa ispitivanim mikroorganizmima, podudaraju se sa rezultatima ranije objavljenih istraživanja.

Zaključci su predstavljeni jasno, odgovarajući na postavljene ciljeve, a na osnovu prikazanih rezultata:

1. Parodontopatogeni *P.gingivalis* i *Fusobacterium spp.* stanovnici su peri-implantne niše obolelih implantata. *P.gingivalis* je najzastupljeniji u peri-implantnim džepovima obolelih od peri-implantitisa, dok se nivo prisutnog *Fusobacterium spp.* ne razlikuje značajno kod obolelih implantata, ali odstupa u odnosu na zdrave.
2. Smanjena genska ekspresija *Notch 1* gena i povećana ekspresija *Hey 1* gena prate peri-implantitis. Ovi geni promovišu gubitak koštanog tkiva oko implantata.
3. Peri-implantitis praćen je povećanjem nivoa genske ekspresije ispitivanih proinflammatoryh citokina: *TNF- α* , *IL-17*, *IL-1 β* i *IL-6*. Proinflammatory medijatori luče se kao odgovor domaćina na štetne nokse, pojačavaju imuni odgovor i sa ciljem da ograniče infekciju oni dovode do destrukcije tkiva.
4. Poremećen međudnos *RANKL*-a i *OPG*-a vodi do koštane remodelacije u pogledu resorpcije kosti kod peri-implantitisa, gde su zabeleženi znatno viši nivoi *RANKL* gena u odnosu na peri-implantni mukozitis i zdrave implantate.
5. Povećanje *P.gingivalis* bakterije dovodi do prekomerne ekspresija *Notch 2* gena kod pacijenata sa peri-implantnim mukozitisom. Takođe, Prisustvo *Fusobacterium spp.* u većoj meri kod pacijenata sa peri-implantitisom, eksprimovaće pojačanu ekspresiju *TNF- α* . Pored toga, *Notch 1* i *Hey 1* geni dominiraju kod zdravih implantata sa niskim vrednostima *C. albicans* u peri-implantnom sulkusu, dok će kod peri-implantitisa povećana ekspresija *Hey 1* gena rezultovati malom prevalencom ovog mikroorganizma.
6. Povećanje *P.gingivalis* u subgingivalnoj regiji implantata ima uticaj na povećanje vrednosti dubine sondiranja i krvarenja na provokaciju na nivou usne duplje. Prediktor je vrednosti dubine sondiranja i nivoa pripojnog epitela u regiji implantata. Takođe prisustvo ovog parodontopatogena utiče i na promenu vrednosti krvarenja na provokaciju regije implantata. S druge strane, *Fusobacterium spp.* nije prediktor, ali prevalenca ovog mikroba utiče na vrednosti nivoa pripojnog epitela, krvarenja na provokaciju i plak indeks čitavog zubika, kao na dubinu sondiranja i krvarenje oko implantata.

U poglavlju **Literatura** prikazan je spisak od 258 referenci iz relevantne naučne literature, koje su adekvatno citirane u radu.

Objavljeni radovi koji čine deo doktorske disertacije

1. **Jezdić M**, Nikolic N, Krasavcevic AD, Milasin J, Aleksic Z, Carkic J, Jankovic S, Milinkovic I. Clinical, microbiological and osteoimmunological findings in different peri-implant conditions - A cross-sectional study. Clin Oral Implants Res. 2023 Sep;34(9):958-966. doi: 10.1111/clr.14122. Epub 2023 Jun 30. PMID: 37392017.

2. Đinić Krasavčević, A., Nikolić, N., Milinković, I., Čarkić, J., **Jezdić, M.**, Janković, S., Aleksić, Z., & Milašin, J. (2023). *Notch signalling cascade and proinflammatory mediators in peri-implant lesions with different RANKL/OPG ratios-An observational study. Journal of periodontal research, 58(2), 360–368.*

3. Milinković I, Đinić Krasavčević A, Nikolić N, Aleksić Z, Čarkić J, **Jezdić M**, Janković S, Milašin J. *Notch down-regulation and inflammatory cytokines and RANKL overexpression involvement in peri-implant mucositis and peri-implantitis: A cross-sectional study. Clinical Oral Implants Research. 2021;32(12):1496-1505*

Provera originalnosti doktorske disertacije

Na osnovu pravilnika o postupku provere originalnosti doktorskih disertacija koje se brane na Univerzitetu u Beogradu, i nalaza u izveštaju iz programa *iThenticate* kojim je izvršena provera originalnosti doktorske disertacije pod nazivom „**Komparativna analiza osteoimunoloških i mikrobioloških profila peri-implantnih stanja i oboljenja**”, autora **Marije Vučković**, utvrđeno je da podudaranje teksta iznosi **7%**. Ovaj stepen podudarnosti posledica je korišćenja standardnih izraza iz oblasti istraživanja, opštih mesta i podataka, citata, kao i prethodno publikovanih rezultata doktorandovih istraživanja, koji su proistekli iz njegove disertacije, što je u skladu sa članom 9. Pravilnika i ukazuje na originalnost doktorske disertacije.

2. Zaključak

Doktorska disertacija „**Komparativna analiza osteoimunoloških i mikrobioloških profila peri-implantnih stanja i oboljenja**“, autora **dr Marije Vučković** predstavlja pažljivo osmišljeno i originalno istraživanje, koje daje značajan naučni doprinos u pogledu preciznijeg definisanja etiologije i patogenetskog mehanizma peri-implantnih oboljenja i stanja.

Imajući u vidu da su i dalje u toku istraživanja koja teže da doprinesu izboru optimalnih terapijskih modaliteta u cilju izlječenja oboljenja koja se javljaju oko dentalnih implantata, razjašnjavanje etiologije i egzaktnih patogenetskih procesa koji se odigravaju u peri-implantnim tkivima od velikog su značaja. Detaljnije razumevanje peri-implantnih oboljenja i stanja na molekularnom nivou može doprineti identifikaciji i razvoju novih terapijskih metoda, koje bi mogle značajno uticati na ishod lečenja ovih oboljenja.

Doktorska disertacija dr Marije Vučković sprovedena je u skladu sa svim načelima naučnog istraživanja, sa precizno definisanim ciljevima, originalnom metodologijom, detaljno izloženim i argumentovanim rezultatima, kao i jasno formulisanim zaključcima.

Nakon uvida u dostavljeni tekst Komisija je jednoglasno ocenila da doktorska disertacija „**Komparativna analiza osteoimunoloških i mikrobioloških profila peri-implantnih stanja i oboljenja**“, autora **dr Marije Vučković** predstavlja originalno, samostalno i dobro dokumentovano istraživanje. S obzirom na prethodno navedeno, Komisija smatra da kompleksnost ove disertacije ukazuje na naučnu relevantnost kandidata.

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 pozitivan izveštaj Komisije za ocenu doktorske disertacije dr Marije Vučković i odobri njenu javnu odbranu.

Beograd, 2024.

Članovi Komisije:

Prof. dr Zoran Aleksić

Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Jelena Milašin

Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

Prof. dr Saša Janković

Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu

dr sci Ivana Strahinić, naučni savetnik

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Univerzitet u Beogradu