

Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

На основу члана 53. Статута Стоматолошког факултета Универзитета у Београду, Наставно-научно веће Стоматолошког факултета, на редовној седници одржаној 26.5.2026. године, именовало је Комисију у саставу:

1. **Проф. др Маја Милетић**, редовни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Патолошка физиологија
2. **Проф. др Божидар Брковић**, редовни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Орална хирургија
3. **Проф. др Катарина Бељић-Ивановић**, ванредни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Болести зуба и ендодонција
4. **Др сци Нађа Николић**, виши научни сарадник, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Хумана генетика
5. **Проф. др Наида Хациабдић**, редовни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Сарајеву, ужа научна област: Орална хирургија

за оцену завршене докторске дисертације под називом **УЛОГА ПОЛИМОРФИЗАМА И ЕКСПРЕСИЈЕ ГЕНА ЗА РЕГУЛАТОРЕ КОШТАНЕ РЕСОРПЦИЈЕ, МАТРИКСНЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗЕ И ЊИХОВЕ ТКИВНЕ ИНХИБИТОРЕ У ПАТОГЕНЕЗИ ХРОНИЧНИХ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА**

Кандидат: **др Доброслав Пурешевић**

Ментори:

1. **Проф. др Мирослав Андрић**, редовни професор, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Орална хирургија
2. **Доц. др Александар Јаковљевић**, доцент, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду, ужа научна област: Патолошка физиологија

Именована Комисија је проучила докторску дисертацију и подноси Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду следећи

ИЗВЕШТАЈ

А. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Доброслава Пурешевића под називом **УЛОГА ПОЛИМОРФИЗАМА И ЕКСПРЕСИЈЕ ГЕНА ЗА РЕГУЛАТОРЕ КОШТАНЕ РЕСОРПЦИЈЕ, МАТРИКСНЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗЕ И ЊИХОВЕ ТКИВНЕ ИНХИБИТОРЕ У ПАТОГЕНЕЗИ ХРОНИЧНИХ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА** написана је на 130 страна текста, уз приказ 14 табела, 14 слика и 335 референци из савремене и значајне научне литературе. Дисертација садржи: сажетак на српском и енглеском језику, увод, научну основу проблема, циљ истраживања, материјал и методе, резултате, дискусију, закључке, литературу, прилоге и биографију аутора.

У **Уводу** је најпре приказана анатомска грађа и функционална повезаност пулпо-дентинског комплекса са апикалним периодонцијумом, као и основне карактеристике хроничних периапикалних лезија. Посебна пажња посвећена је етиологији и патогенези ових лезија, улози микроорганизама и имунолошког одговора домаћина, као и процесима коштане ресорпције и ремоделовања екстрацелуларног матрикса. У наставку су систематично приказана сазнања о матриксним металопротеиназама (ММР), посебно ММР-2 и ММР-9, њиховим ткивним инхибитором ТИМР-2, као и регулаторима коштане ресорпције из система RANKL/OPG. Такође је дат преглед досадашњих сазнања о улози наведених молекула и наследних фактора у патогенези хроничних периапикалних лезија.

Научна основа проблема јасно указује на значај испитивања молекуларних и генетских механизма који могу допринети развоју, прогресији и биолошкој хетерогености хроничних периапикалних лезија. Полазећи од чињенице да се деструкција периапикалног ткива заснива на сложеној интеракцији инфекције, инфламаторног одговора (са нагласком на остеоκластогенезу и ремоделовање екстрацелуларног матрикса), дисертација је усмерена ка интегрисаном испитивању нивоа релативне експресије гена и полиморфизама појединачних нуклеотида у генима *MMP2*, *MMP9*, *TIMP2*, *RANKL* и *OPG*.

Циљ истраживања био је да се испита ниво релативне експресије гена *MMP2*, *MMP9*, *TIMP2*, *RANKL* и *OPG* у ткиву хроничних периапикалних лезија и здравог пулпног ткива, као и учесталости одговарајућих генских полиморфизама и њихове повезаности са клиничким, радиографским и патохистолошким карактеристикама лезија. Поред тога, истраживање је имало за циљ да процени међусобне односе анализираних молекуларних параметара и њихов могући допринос настанку и биолошком понашању хроничних периапикалних лезија.

У поглављу **Материјал и методе** приказано је да је истраживање спроведено као клиничко-лабораторијска студија пресека, која је обухватила 100 испитаника подељених у експерименталну групу од 50 узорака периапикалних лезија и контролну групу од 50

узорака здравог пулпног ткива импактираних доњих трећих молара. Јасно су наведени етички стандарди, критеријуми за укључивање и искључивање испитаника, начин прикупљања узорака, као и клинички, радиографски и патохистолошки параметри од интереса за истраживање. Лабораторијски део обухватио је изолацију RNK и DNK, реверзну транскрипцију, одређивање нивоа релативне експресије гена методом квантитативног *RT-PCR* као и генотипизацију полиморфизама методама *TaqMan* алелне дискриминације и *PCR-RFLP* методе. У статистичкој обради података наведени су адекватно одабрани статистички тестови, укључујући компаративне, корелационе и регресионе анализе.

Резултати су приказани прегледно и систематично кроз више целина: опште карактеристике узорка; ниво релативне експресије гена у испитиваним групама; ниво релативне експресије гена у односу на клиничке, радиографске и хистопатолошке подгрупе; анализа нивоа релативне експресије *MMP2*, *MMP9* и *TIMP2* у *RANKL*- и *OPG*-доминантним лезијама; корелације између нивоа релативне експресије испитиваних гена; резултати логистичке регресионе анализе; дистрибуција генотипова и алела анализираних полиморфизама; повезаност генотипова са нивоом релативне експресије одговарајућих гена, као и корелација генотипова са клиничким, радиографским и патохистолошким параметрима.

У **Дискусији** су добијени резултати анализирани у односу на актуелна сазнања о патогенези хроничних периапикалних лезија, улози матриксних металопроотеиназа, ткивних инхибитора и регулатора коштане ресорпције. Посебно су размотрени резултати који указују на значај *MMP-2*, *MMP-9* и *RANKL* у деструкцији периапикалног ткива, као и налази који упућују на то да поједини промоторски полиморфизми *MMP2* и *MMP9* могу имати функционални утицај на ниво релативне експресије одговарајућих гена. Резултати су упоређени са налазима релевантних хуманих, експерименталних и генетичких истраживања из области апикалног периодонтитиса, пародонтопатија, периимплантитиса и других инфламаторних и коштаних обољења усне дупље.

На основу приказаних и размотрених резултата формулисани су **Закључци** који представљају јасне одговоре на постављене циљеве истраживања. Коришћена **Литература** садржи листу од 335 референци које су адекватно цитиране у раду.

Б. Кратак опис постигнутих резултата

Анализа нивоа релативне експресије гена показала је да су нивои релативне експресије *MMP2*, *MMP9* и *RANKL* статистички значајно већи у ткивима хроничних периапикалних лезија у односу на здраво пулпно ткиво. Насупрот томе, за *TIMP2* и *OPG* нису уочене статистички значајне разлике између испитиваних група. Овакав резултат указује да су *MMP-2*, *MMP-9* и *RANKL* посебно укључени у процесе ремоделовања матрикса и коштане ресорпције у хроничним периапикалним лезијама.

У односу на карактеристике лезија, ниво релативне експресије гена *MMP9* и *RANKL* био је статистички значајно већи у радиографски процењеним великим лезијама у односу на мање

лезије, као и у радикуларним цистама у односу на периапикалне грануломе. За MMP-2, TIMP-2 и OPG нису утврђене значајне разлике у односу на радиографске и хистопатолошке карактеристике лезија. Такође, није уочена статистички значајна разлика у нивоу релативне експресије испитиваних гена између симптоматских и асимптоматских хроничних периапикалних лезија.

Анализом *RANKL*- и *OPG*-доминантних лезија показано је да је ниво релативне експресије гена за MMP-9 статистички значајно виши у *RANKL*-доминантним у односу на *OPG*-доминантне лезије. Разлике у нивоу релативне експресије гена за MMP-2 и TIMP-2 између ових група нису достигле ниво статистичке значајности. Ови налази указују на могућу везу између MMP-9 и остеокластогеног профила лезија.

Корелациона анализа показала је позитивне и статистички значајне корелације између нивоа релативне експресије *MMP2* и *MMP9*, *MMP2* и *OPG*, као и *MMP9* и *RANKL* у ткивима хроничних периапикалних лезија. Мултиваријантна линеарна регресиона анализа указала је да је повезаност између нивоа релативне експресије гена *MMP2* и *OPG* једина статистички значајна независна корелација у оквиру анализираних модела. Мултиваријантна логистичка регресија показала је да су старост пацијената и ниво релативне експресије гена за MMP-9 статистички значајни предиктори настанка хроничних периапикалних лезија у испитиваном узорку.

Анализа дистрибуције генотипова и алела показала је да нису утврђене статистички значајне разлике између пацијената са хроничним периапикалним лезијама и контролних испитаника за полиморфизме *MMP2* -735 C>T (rs2285053), *MMP9* -1562 C>T (rs3918242), *TIMP2* -418 G>C (rs8179090), *RANKL* -643 T>C (rs9533156) и *OPG* 163 T>C (rs3102735). Овај налаз указује да анализирани полиморфизми, посматрани појединачно, не представљају независне генетске факторе ризика за настанак хроничних периапикалних лезија у испитиваној популацији.

Иако анализирани полиморфизми нису били повезани са појавом лезија, показана је њихова функционална повезаност са нивоом релативне експресије појединих гена. Пацијенти са хроничним периапикалним лезијама који су носиоци CC и CT генотипова *MMP2* -735 C>T полиморфизма имали су статистички значајно виши ниво релативне експресије *MMP2* у односу на носиоце TT генотипа. Слично томе, носиоци CC и CT генотипова *MMP9* -1562 C>T полиморфизма имали су статистички значајно виши ниво релативне експресије *MMP9* у односу на носиоце TT генотипа. За преостале анализираних гене и полиморфизме нису уочене статистички значајне разлике у нивоу релативне експресије у односу на генотип.

Корелација генотипова са клиничким, радиографским и хистопатолошким параметрима није показала статистички значајну повезаност ниједног анализираних генотипа са посматраним карактеристикама хроничних периапикалних лезија. Добијени резултати сугеришу да појединачни испитивани полиморфизми не одређују непосредно клиничко и морфолошко понашање лезија, али да поједине промоторске варијанте могу модулирати ниво релативне експресије гена укључених у деградацију екстрацелуларног матрикса.

Ц. Упоредна анализа докторске дисертације са резултатима из литературе

Досадашња истраживања хроничних периапикалних лезија показала су да њихов настанак и прогресија зависе од међудејства микробиолошких, имунолошких и генетских фактора (Nair et al., 2004). Посебно место у том процесу заузимају механизми коштане ресорпције и ремоделовања екстрацелуларног матрикса, у којима учествују матриксне металопротеиназе, њихови ткивни инхибитори и RANKL/OPG систем (Menezes et al., 2008; Letra et al., 2013). Резултати ове докторске дисертације у складу су са савременим концептом по коме хроничне периапикалне лезије не представљају јединствен биолошки ентитет, већ групу лезија различитог молекуларног профила и различитог деструктивног потенцијала.

Налаз повећаног нивоа релативне експресије RANKL у хроничним периапикалним лезијама у складу је са истраживањима која указују на кључну улогу RANKL/OPG система у регулацији остеокластогенезе и коштане ресорпције. Литературни подаци показују да је повећана експресија RANKL повезана са активнијом ресорпцијом кости и прогресијом периапикалних лезија, док OPG има улогу регулаторног и заштитног молекула који везивањем за RANKL ограничава остеокластну активност (Vernal et al., 2006). Резултати дисертације, према којима је RANKL виши у великим лезијама и радикуларним цистама, додатно подржавају закључак да појачана RANKL сигнализација прати израженији деструктивни фенотип хроничних периапикалних лезија (Menezes et al., 2006).

Резултати који се односе на MMP-2 и MMP-9 такође су у складу са бројним експерименталним и хуманим студијама које су показале да су матриксне металопротеиназе важни ефектори разградње колагена, базалне мембране и других компоненти екстрацелуларног матрикса (Martinho et al., 2016; Ahmed et al. 2021). Посебан значај налаза ове дисертације огледа се у томе што је по први пут утврђен повећан ниво релативне експресије MMP9, а који је повезан са великим лезијама, радикуларним цистама и RANKL-доминантним молекуларним профилем. Тиме се MMP-9 издваја као молекула који може повезивати разградњу матрикса, инфламаторну активност и остеокластогени одговор у хроничним периапикалним лезијама.

За разлику од MMP-2, MMP-9, и RANKL, у овој дисертацији нису уочене статистички значајне разлике у нивоу релативне експресије TIMP2 и OPG између периапикалних лезија и контролног пулног ткива. Овакав налаз не искључује њихову биолошку улогу, већ указује да се њихов допринос може испољавати кроз регулаторне односе, однос активних ензима и инхибитора или локални баланс између проресорптивних и антиресорптивних сигнала, а не нужно кроз изоловано повећање нивоа релативне експресије (Hadziabdic et al., 2016).

Генетска компонента хроничних периапикалних лезија у литератури се све чешће разматра кроз концепт полигенске и мултифакторијалне предиспозиције (Petean et al., 2019; Jakovljevic et al., 2022). У том смислу, одсуство значајне разлике у расподели генотипова и алела анализираних SNP између експерименталне и контролне групе у овој дисертацији у складу је са схватањем да појединачни полиморфизми ретко имају самостални и

детерминистички ефекат на настанак ових лезија. Вероватније је да генетске варијанте делују као модификатори интензитета инфламаторног одговора, ремоделовања матрикса или коштане ресорпције, у зависности од локалног микробиолошког и имунолошког окружења (*Olano-Dextre et al., 2025*).

Посебно важан допринос ове дисертације представља анализа односа између генских полиморфизама и нивоа релативне експресије одговарајућих гена. Показана повезаност *MMP2* -735 C>T и *MMP9* -1562 C>T промоторских варијанти са нивоом релативне експресије *MMP2* и *MMP9* функционално објашњава потенцијални биолошки значај ових полиморфизама. Овај налаз је посебно значајан зато што се већина досадашњих стоматолошких истраживања бавила односом генотип-ризик или генотип-клинички параметри, док је директна анализа транскрипционог фенотипа ређе заступљена.

Укупно посматрано, резултати ове докторске дисертације допуњују постојећа сазнања о патогенези хроничних периапикалних лезија тиме што истовремено анализирају молекуларни и генетски ниво. Налази подржавају став да *MMP-2*, *MMP-9* и *RANKL* имају важну улогу у периапикалној деструкцији, док поједини промоторски полиморфизми *MMP2* и *MMP9* могу утицати на ниво релативне експресије одговарајућих гена и тиме допринети хетерогености инфламаторног одговора (*Evrosimovska et al., 2015; Küchler et al. 2021; Pereira Faustino et al., 2016*).

Д. Објављени радови који чине део докторске дисертације

Purešević D, Krdžovic Lazić E, Nikolić N, Pavlović O, Ideo F, Andrić M, et al. Cross-Sectional Analysis of Matrix Metalloproteinases and Bone Resorption Regulators in Apical Periodontitis: Linking Molecular Mechanisms with Clinical and Histopathological Features. *Acta Stomatol Croat.* 2025 Dec;54(9):378-88. doi:10.15644/asc59/4/5 PubMed PMID: 41584370; PubMed Central PMCID: PMC12826644.

Саопштења из области докторске дисертације:

Purešević D, Nikolić N, Pavlović O, Miletić M, Andrić M, Jakovljević A. Matrix Metalloproteinases As Substrate Enzymes In Alveolar Bone Resorption In Apical Periodontitis. In: 26th Congress of the BaSS - Current trends and advances in dentistry. Skopje; 2023 (PP-82).

Purešević D, Nikolić N, Andrić M, Jakovljević A. Matrix Metalloproteinases Polymorphisms and Gene Expressions in Apical Periodontitis. In: 2024 IADR Continental European and Scandinavian Divisions Meeting, Geneva, Switzerland; 2024 (Presentation ID 0164).

Е. Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација УЛОГА ПОЛИМОРФИЗАМА И ЕКСПРЕСИЈЕ ГЕНА ЗА РЕГУЛАТОРЕ КОШТАНЕ РЕСОРПЦИЈЕ, МАТРИКСНЕ МЕТАЛОПРОТЕИНАЗЕ И ЊИХОВЕ ТКИВНЕ ИНХИБИТОРЕ У ПАТОГЕНЕЗИ ХРОНИЧНИХ ПЕРИАПИКАЛНИХ ЛЕЗИЈА др Доброслава Пурешевића представља значајан и оригиналан научни допринос разумевању молекуларних и генетских механизма укључених у патогенезу хроничних периапикалних лезија. Резултати истраживања јасно указују на повишен ниво релативне експресије гена за MMP-2, MMP-9 и RANKL у периапикалним лезијама у односу на здраво пулпно ткиво, као и на повезаност MMP-9 и RANKL са великим лезијама и радикуларним цистама. Тиме је додатно потврђен значај ових молекула у процесима коштане ресорпције и разградње екстрацелуларног матрикса у периапикалном ткиву.

Оригиналност дисертације огледа се и у истовременом испитивању нивоа релативне експресије гена и одговарајућих полиморфизама појединачних нуклеотида. Иако анализирани полиморфизми нису показали значајну повезаност са настанком хроничних периапикалних лезија, показано је да промоторске варијанте *MMP2* и *MMP9* могу бити повезане са нивоом релативне експресије одговарајућих гена. Овакав приступ доприноси бољем разумевању функционалног значаја генетске варијабилности у хроничним периапикалним лезијама и указује на потребу интеграције генетских, молекуларних и клиничких података у будућим истраживањима.

Докторска дисертација др Доброслава Пурешевића урађена је према свим принципима научног истраживања, са прецизно постављеним циљевима, савременом методологијом рада, адекватно приказаним и продискутованим резултатима и јасно уобличеним закључцима. На основу свега наведеног, и имајући у виду објављене радове из области

докторске дисертације, Комисија предлаже Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати докторску дисертацију др Доброслава Пурешевића и одобри њену јавну одбрану ради стицања академске титуле доктора стоматолошких наука.

У Београду, 28.05.2026. године

Чланови Комисије:

Проф. др Маја Милетић,

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Божидар Брковић,

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Катарина Бељић-Ивановић,

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

ВНС, др сци Нађа Николић,

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Наида Хаџиабдић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Сарајеву
