

**NASTAVNO NAUČNOM VEĆU  
STOMATOLOŠKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU**

PREDMET: Izveštaj stručne komisije i ocena završene doktorske disertacije dr Mile Vučković pod nazivom „UTICAJ INJEKTABILNOG FIBRINA BOGATOG TROMBOCITIMA U INICIJALNOJ TERAPIJI HRONIČNOG PARODONTITISA”.

Na osnovu člana 50. Statuta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, na redovnoj sednici Nastavno - naučnog veća Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, u školskoj 2019/20. godini, održanoj 29.09.2020. godine, doneta je odluka o imenovanju stručne komisije za ocenu završene doktorske disertacije kandidata dr Mile Vučković, pod nazivom: „UTICAJ INJEKTABILNOG FIBRINA BOGATOG TROMBOCITIMA U INICIJALNOJ TERAPIJI HRONIČNOG PARODONTITISA” u sastavu:

1. Prof. dr Saša Janković, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
2. Prof. dr Jelena Milašin, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu
3. Prof. dr Milanko Đurić, Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu

Na osnovu detaljne analize priloženog teksta doktorske disertacije i priložene dokumentacije, komisija podnosi Nastavno - naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

**IZVEŠTAJ**

**1. BIOGRAFSKI PODACI**

Dr Mila Vučković rođena je 29.09.1983. godine u Beogradu. Osnovnu školu i Gimnaziju završila je u Mladenovcu. Osnovne studije upisala je 2002. godine na Stomatološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu. Diplomirala je 15.03.2008. godine, sa prosečnom ocenom 9,21

(9,21/10,0). Po završetku fakulteta i obaveznog pripravničkog staža, stručni ispit za doktora stomatologije je položila 30.06.2009.godine.

Nakon zasnovanog radnog odnosa u stomatološkoj ordinaciji „Vukadinović” 01.10.2009.godine, od 17.12.2012. u radnom odnosu je na Stomatološkom fakultetu, Univerziteta u Beogradu i učestvuje u izvođenju praktične nastave u svojstvu instruktora na sledećim predmetima: Osnovi parodontologije, Klinička parodontologija, Oralna medicina, Epidemiologija oboljenja parodontcijuma, Oralna implantologija i Pacijenti rizika. Decembra 2016. izabrana je za asistenta na predmetima: Osnovi parodontologije, Klinička parodontologija, Oralna medicina, Epidemiologija oboljenja parodontcijuma i Pacijenti rizika.

Specijalističke studije iz oblasti Parodontologija i oralna medicina na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je u maju 2013.godine. Specijalistički ispit položila je 16.02.2016. godine sa odličnom ocenom. Školske 2013/2014. godine na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu upisala je doktorske studije, na kojima je položila sve ispite predviđene planom i programom studija sa prosečnom ocenom 10,0.

Do sada je publikovala 5 naučnih radova na SCI listi i imala 10 saopštenja na stručnim skupovima. U završnici svog istraživanja, deo rezultata iz doktorske disertacije objavila je u međunarodnom časopisu Srpski Arhiv za Celokupno Lekarstvo (M23), DOI:10.2298/SARH190925022V.

Tokom stručnog usavršavanja, završila je veći broj sertifikovanih kurseva kontinuirane edukacije iz oblasti parodontologije.

Član je Sekcije za parodontologiju SLD-a, Udruženja parodontologa Srbije, kao i Evropske federacije za parodontologiju (EFP).

Bila je učesnik projekta Ministarstva prosvete, nauke i tehnološkog razvoja Republike Srbije, pod nazivom: “Interakcije etiopatogenetskih mehanizama parodontopatije i periimplantitisa sa sistemskim bolestima današnjice” (broj projekta: 41008).

## 2. OSNOVNI PODACI O DOKTORSKOJ DISERTACIJI

Nastavno - naučno veće Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu je na redovnoj sednici održanoj 12.05.2015. godine usvojilo pozitivan Izveštaj stručne komisije o kandidatu dr Mili Vučković za ocenu predloga teme pod nazivom „Uticaj injektabilnog fibrina bogatog trombocitima u inicijalnoj terapiji hroničnog parodontitisa” uz saglasnost veća Naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu.

Za mentora disertacije imenovan je Prof. dr Zoran Aleksić, redovni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu.

## 3. PREDMET I SADRŽAJ DOKTORSKE DISERTACIJE

Doktorska disertacija dr Mile Vučković, pod nazivom „Uticaj injektabilnog fibrina bogatog trombocitima u inicijalnoj terapiji hroničnog parodontitisa” napisana je na 176 strana, ilustrovana je sa 15 slika, 36 tabela i 31 grafikonom.

Doktorska disertacija sadrži sažetak na srpskom i engleskom jeziku, uvod i pregled literature, ciljeve istraživanja, metodologiju, rezultate istraživanja, diskusiju, zaključke i literaturu.

U **Uvodu** se detaljno opisuje parodontopatija kao jedna od najučestalijih bolesti današnjice sa značajnim posledicama po opšte zdravlje čoveka. Pored eliminacije osnovnog etiološkog faktora, dentalnog plaka i inflamacije parodoncijuma, cilj aktuelnih terapijskih postupaka je da se ostvari delimična ili potpuna regeneracija svih izgubljenih parodontalnih tkiva.

Za regeneraciju parodoncijuma neophodna je kompleksna interakcija između epitelnih ćelija, gingivalnih fibroblasta, ćelija periodontalnog ligamenta, cementoblasta i osteoblasta. Odvijanje celokupnog procesa regeneracije je još uvek nedovoljno razjašnjeno, ali je svakako poznato da ključnu ulogu imaju trombociti. Razvoj biološki aktivnih materijala koji se koriste u regulaciji inflamatornih procesa, kao i za ubrzanje procesa zarastanja tkiva jedan je od velikih izazova kliničkih istraživanja. Fibrin bogat trombocitima (engl. *platelet rich fibrin* – PRF), autologi koncentrat krvi, predstavlja revolucionarni korak u terapijskom konceptu aktivne regeneracije tkiva. Pažljivim centrifugiranjem venske krvi dobija se PRF u vidu guste fibrinske mreže u kojoj su zarobljeni trombociti i leukociti, a posebnim protokolom i njegov tečni oblik, tj. injektabilni fibrin bogat trombocitima (engl. *injectableplatelet rich fibrin* – i-PRF). Ovakav tečni oblik

zadržava se u trajanju od 15 minuta kada je pogodan za manipulaciju i aplikaciju u prostor parodontalnih džepova. U uvodu doktorske disertacije dalje se razmatra i značaj gingivalne tečnosti kao dijagnostičkog medijuma, pored procene kliničkih parametara, na osnovu kvalitativnog i kvantitativnog dokazivanja parodontopatogenih mikroorganizama u gingivalnoj tečnosti (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* – *A. a.*, *Porphyromonas gingivalis* – *P. g.*, *Prevotella intermedia* – *P. i.* i *Tannerella forsythia* – *T. f.*) kao i na osnovu njenog biohemijskog sastava, odnosno prisustva određenih bioloških markera (matriksna-letaloproteinaza-8 – MMP-8, faktor-nekroze tumora- $\alpha$  – TNF- $\alpha$  i alkalna fosfataza – ALP).

U drugom poglavlju jasno i precizno su definisani **Ciljevi** istraživanja. Autor polazi od pretpostavke da terapijski ishod hroničnog parodontitisa može biti unapređen primenom autologog koncentrata trombocita i-PRF, čiji uticaj se ogleda u ubrzanju regeneracije svih tkiva parodoncijuma, smanjenju inflamacije i koncentracije mikroorganizama.

Kandidat je definisao sledeće ciljeve istraživanja:

- Evaluacija efekta primene injektabilnog fibrina bogatog trombocitima na kliničke parametre u toku inicijalne terapije hroničnog parodontitisa.
- Komparativna analiza kliničkih rezultata nakon primene fibrina bogatog trombocitima u kombinaciji sa inicijalnom terapijom parodontitisa u odnosu na samostalnu inicijalnu terapiju.
- Procena kliničkih rezultata i značajnost unapređenja rezultata terapije.
- Procena kvantitativne promene koncentracije parodontopatogenih mikroorganizama u gingivalnoj tečnosti, dokazivanjem bakterijske DNK, nakon primene jedne ili obe vrste terapije.
- Procena promene kvalitativnog sastava parodontopatogenih mikroorganizama u gingivalnoj tečnosti, dokazivanjem bakterijske DNK, nakon primene jedne ili obe vrste terapije.
- Utvrđivanje promena koncentracije pojedinih biomolekula gingivalne tečnosti, koji su referentni markeri patogeneze hroničnog parodontitisa, nakon primene jedne i obe vrste terapije.
- Utvrđivanje faktora predikcije za različit terapijski ishod nakon primene oba terapijska postupka.

U narednom, trećem poglavlju, navedeni su podaci od značaja za **Metodologiju** primenjenu u ovom istraživanju koje je obavljeno na Klinici za parodontologiju i oralnu medicinu i u Laboratoriji za bazična istraživanja, Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Studija je podrazumevala „split mouth“ dizajn i obuhvatila je 30 ispitanika. Kod svakog ispitanika bila je primenjena inicijalna faza terapije parodontitisa, a randomizovanim odabirom strane usta, jedna polovina vilice dodatno je bila tretirana i aplikacijom i-PRF-a. Ona je činila ispitivanu grupu (P) dok je suprotna strana vilice predstavljala kontrolnu grupu (C).

Kandidat je precizno opisao uključujuće i isključujuće kriterijume koji su primenjeni prilikom regrutacije ispitanika u studiju, kao i protokol izvođenja terapijskog postupka, upotpunjene sa 9 slika.

Detaljno su opisani klinički parametri za procenu stanja parodonticijuma i nivoa oralne higijene (dubina sondiranja, nivo ivice gingive, nivo pripojnog epitela, indeks krvarenja na provokaciju i plak indeks), kao i metode uzorkovanja gingivalne tečnosti i način na koji su uzorci skladišteni i čuvani do trenutka analize. Uzorci gingivalne tečnosti uzimani su sa dva reprezentativna mesta filter papirima Perio Paper®, 24h nakon merenja i beleženja kliničkih parametara, kako bi se izbegla kontaminacija krvlju neposredno nakon sondiranja.

Dokazivanje bakterijske DNK je vršeno primenom lančane reakcije polimeraze (engl. polymerase chain reaction, PCR). Umnožavanje eventulano prisutne bakterijske DNK u materijalu sprovedeno je u PCR aparatu (PCR Express, Hybaid, USA).

Uzorkovanje gingivalne tečnosti korišćeno je i za utvrđivanje nivoa MMP-8, TNF- $\alpha$  i ALP. Analiza njihove koncentracije u ovoj tečnosti je sprovedena upotrebom odgovarajućih ELISA (enzimskog imunosorbent eseja) kompleta.

Navedenim istraživanjem došlo se do **Rezultata** koje je kandidat detaljno i sistematično opisao i prikazao pomoću 35 tabela i 31 grafikonom, u četvrtom poglavlju ove disertacije. Pokazano je da su mereni klinički parametri (dubina sondiranja, nivo ivice gingive, nivo pripojnog epitela, indeks krvarenja na provokaciju i plak indeks) na svim zubima, kao i na reprezentativnim mestima, statistički značajno veći u kontrolnoj grupi, gde je kao terapijski postupak primenjen samo konvencionalni oblik inicijalne terapije, u poređenju sa ispitivanom grupom ( $p < 0,05$ ) iako

je tokom šestomesečnog perioda praćenja došlo do statistički značajno smanjenja vrednosti ovih parametara ( $p=0,00$ ) u odnosu na polazni trenutak.

Takođe, koncentracije mikroorganizama u gingivalnoj tečnosti nakon primene inicijalne terapije parodontitisa samostalno ili u kombinaciji sa i-PRF-om pokazuju statistički značajno manju vrednost nakon celokupnog vremena praćenja ( $p<0,05$ ). Vrednosti koncentracije mikroorganizma *A. a.*, *P. g.* i *T. f.* između P i C grupe pokazuju statističku značajnu razliku nakon 1 i 3 meseca praćenja, dok se ove vrednosti ne razlikuju nakon 6 meseci. Za razliku od njih, koncentracija mikroorganizma *P. i.* ne pokazuje statistički značajnu razliku već nakon trećeg meseca praćenja.

Nivoi ekspresije molekula MMP-8, TNF- $\alpha$  u P grupi pokazuju statistički značajan pad 6 meseci nakon primene terapijskog postupka u odnosu na C grupu, osim za MMP-8 nakon 6 meseci. Koncentracija ALP nakon statistički značajnog pada vrednosti nakon mesec dana, ponovo pokazuje povećanje sa statističkom značajnošću do kraja perioda praćenja. I pored toga, koncentracije ALP u P i C grupi pokazuju statistički značajnu razliku između svakog intervala praćenja (1, 3, i 6 meseci) ( $p<0,05$ ).

U poglavlju **Diskusija**, primenjene metode i rezultati dobijeni u ovom istraživanju su kritički i detaljno analizirani i poređeni sa navodima iz savremene literature koja se bavi ovom izuzetno kompleksnom i važnom problematikom. Ova studija je prva randomizovana „split mouth“ studija koja je proučavala uticaj primene autologog koncentrata trombocita i-PRF u toku inicijalne terapije hroničnog parodontitisa. Rezultati ove studije su pokazali da postoji povezanost sa značajnijim smanjenjem stepena inflamacije u parodonticijumu nakon primene i-PRF-a koja se reflektuje u smanjenju vrednosti kliničkih parametara, ali i u smanjenju koncentracije inflamatornih citokina. Smatra se da je ovo posledica sinergističkog delovanja trombocita i leukocita centrifugirane venske krvi koji se izdvajaju u ovom koncentratu, ali i njegovim antibakterijskim dejstvom odnosno uticajem na smanjenje koncentracije parodontopatogenih mikroorganizama. Sve navedeno rezultuje povoljnijim uslovima za odvijanje procesa regeneracije tkiva parodonticijuma.

U **Zaključku** možemo izdvojiti da primena i-PRF u toku inicijalne terapije parodontitisa dovodi do statistički značajnog poboljšanja kliničkih parametara ispitanika nakon svakog od definisanih

intervala praćenja (1 mesec, 3meseca i 6 meseci). Takođe, ukupna koncentracija ispitivanih parodontopatogena u gingivalnoj tečnosti nakon sprovedene obe vrste terapije je statistički značajno manja nakon 1 i 3 meseca između posmatranih grupa, dok se nakon 6 meseci razlika više ne uočava, najverovatnije zbog „split mouth“ dizajna studije. Koncentracije TNF- $\alpha$ , MMP-8 i ALP u gingivalnoj tečnosti posmatrane grupe uzoraka uz primenjen i-PRF su statistički značajno manje nakon svakog intervala praćenja, osim za MMP-8 nakon 6 meseci.

Međugrupnim poređenjem i regresionom analizom svih posmatranih parametara, kao faktor predikcije pojavljuje se razlika u dubini sondiranja nakon prvog meseca, što potvrđuje efikasniji antiinflamatorni efekat terapije dodatkom i-PRF. Zabeležena je i statistička značajnost indeksa krvarenja na provokaciju nakon 6 meseci. Analizom parametra PPD u šestomesečnom vremenskom intervalu, kao faktor predikcije se izdvaja vrednost ovog parametra nakon 3 meseca i vrednost TNF- $\alpha$  nakon mesec dana. Možemo zaključiti da je smanjenje vrednosti TNF- $\alpha$  nakon mesec dana u studijskoj grupi uticalo na smanjenje vrednosti PPD nakon 3 meseca i izdvojilo se kao faktor predikcije za statistički značajnu razliku u korist PPD nakon 6 meseci. Analizom vrednosti parametra CAL u linearnom regresionom modelu, nakon perioda od 6 meseci, kao faktor predikcije izdvaja se vrednost ovog parametra nakon mesec dana. Smanjenje ovog parametra u prvom mesecu u grupi sa aplikovanim i-PRF će rezultovati boljim terapijskim ishodom i kliničkim stanjem parodoncijuma nakon 6 meseci. Analizom vrednosti koncentracije *P. g.* nakon mesec dana, u linearnom regresionom modelu, uočava se statistički značajna razlika vrednosti CAL u odnosu na druge parametre posmatrane tokom istog vremenskog perioda, što implicira direktan uticaj stanja parodoncijuma na koncentraciju ove bakterije.

## ZAKLJUČNO MIŠLJENJE

Dr Mila Vučković je za predmet svog istraživanja izabrala do sada neispitivan način primene autologih koncentrata trombocita u lečenju jednog od najčešćih oboljenja usne duplje i kao takav od izuzetnog je značaja za stomatološku struku i nauku. Složena interakcija između ćelija i-PRF-a smeštenih u kompleksnoj strukturi fibrinske mreže omogućava produženo oslobađanje brojnih molekula, od kojih su najznačajniji faktori rasta, i međusobnu interakciju leukocita i trombocita koja rezultuje smanjenjem stepena progresije parodontitisa. Povoljni efekti ovog terapijskog

postupka se mogu uočiti i nakon 6 meseci, što ukazuje na značajnost njegove primene u kliničkoj praksi i moguće dugoročne povoljne efekte na stanje parodontcijuma pacijenata sa parodontitisom.

Na osnovu svega navedenog, ostvarenih rezultata, kvaliteta i originalnosti primenjenih metoda i značajnog naučnog doprinosa, članovi komisije sa zadovoljstvom predlažu Nastavno - naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da prihvati pozitivnu ocenu završene doktorske disertacije pod nazivom „UTICAJ INJEKTABILNOG FIBRINA BOGATOG TROMBOCITIMA U INICIJALNOJ TERAPIJI HRONIČNOG PARODONTITISA”, kandidata dr Mile Vučković i odobri javnu odbranu doktorske disertacije pred odabranom komisijom.

Beograd, 02.10. 2020.

Članovi komisije:

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

-----  
Prof. dr Jelena Milašin  
(Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu)

-----  
Prof. dr Milanko Đurić  
(Medicinski fakultet, Univerzitet u Novom Sadu)