

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

Na sednici Nastavno-naučnog veća Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu od 26.4.2016., imenovana je komisija u sastavu:

Prof dr Ivana Šćepan, Stomatološki fakultet, Beograd

Prof dr Marko Babić, Stomatološki fakultet, Beograd

Prof dr Predrag Vučinić, Medicinski fakultet Novi Sad, Odsek za stomatologiju

za ocenu završene doktorske disertacije pod nazivom

"Uticaj mutacija RUNX2 i WNT10A gena na broj i veličinu zuba".

Kandidat: Marija Živković Sandić

Mentor: Prof dr Branislav Glišić

Komentor: Prof dr Branka Popović

Imenovana komisija je proučila tekst doktorske disertacije i Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu podnosi sledeći izveštaj.

IZVEŠTAJ

Kandidat dr Marija Živković je rođena 27.01.1986 god. u Beogradu. Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu upisala je 2004. godine i diplomirala u martu 2010. godine sa prosečnom ocenom 9.43. Na poslednjoj godini studija bila je stipendista Fonda za mlade talente Ministarstva Omladine i sporta Republike Srbije. Nakon obavljenog pripravničkog staža na Klinikama Stomatološkog fakulteta položila je stručni ispit za doktore stomatologije u junu 2011. Doktorske studije na Stomatološkom fakultetu u Beogradu iz naučne oblasti Ortopedija vilica upisala je 2010 god. i položila sve ispite predviđene nastavnim planom i programom. Od 2015 god. je angažovana kao saradnik na projektu Ministarstva za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj RS (br. 172026).

Doktorska disertacija dr Marije Živković Sandić pod nazivom "**UTICAJ MUTACIJA RUNX2 I WNT10A GENA NA BROJ I VELIČINU ZUBA**" napisana je na 138 strana i sadrži 11 tabela, 24 grafikona i 19 slika. Tekst disertacije uključuje: sažetak na srpskom i engleskom jeziku, uvod, ciljeve istraživanja, materijal i metode, rezultate, diskusiju, zaključke i literaturu.

U **Uvodu** kandidat opisuje razvojne faze zuba, kao i osnovne principe dijagnoze hipodoncije i njene kliničke implikacije. Takođe, navodi se i prevalenca zubne ageneze u različitim populacijama, naglašavajući da ova retka razvojna anomalija nije dovoljno izučavana u našoj populaciji. U uvodu su predstavljena i aktuelna naučna saznanja o genskoj osnovi nastanka hipodoncije i istaknuta uloga ključnih gena čiji su produkti (signalni molekuli i transkripcioni faktori) odgovorni za vremenski programiranu ekspresiju gena u različitim fazama razvoja zuba. Posebna pažnja posvećena je ulozi RUNX2 i WNT10A gena čija je uloga u odontogenezi potvrđena u brojnim istraživanjima, ali njihova uloga u nastanku hipodoncije je još uvek nedovoljno rasvetljena.

Ciljevi istraživanja su jasno i precizno definisani. Osnovni cilj istraživanja bio je da se ispita da li potencijalne mutacije RUNX2 i WNT10A gena utiču na razvoj hipodoncije, odnosno na pojavu anomalija veličine zuba u osoba sa hipodoncijom. U okviru osnovnog cilja definisani su sledeći istraživački zadaci: da se ispituju tipovi i zastupljenost mutacija RUNX2 gena (egzoni 3 i 4) i WNT10A gena (egzoni 2 i 3) kod pacijenata sa hipodoncijom/oligodoncijom, da se utvrdi veza između tipova mutacija u oba ispitana gena i kliničkih karakteristika pacijenata sa hipodoncijom, zatim da se utvrdi da li kod pacijenata sa hipodoncijom/oligodoncijom postoje anomalije veličine zuba u odnosu na pacijente bez hipodoncije, kao i da se utvrdi korelacija između veličine zuba i prisustva mutacija u analiziranim egzonima WNT10A i RUNX2 gena.

U poglavlju **Materijal i metode** jasno je opisan eksperimentalni deo ovog istraživanja, koje je prema postavljenim ciljevima realizovano u dva pravca. Molekularno-genetički deo istraživanja odnosio se na ispitivanje tipova i zastupljenosti mutacija RUNX2 i WNT10A gena

kod pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba i njihovih srodnika, dok je drugi deo istraživanja (klinički) podrazumevao merenje meziodistalnih širina zuba kod pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba, i njihovo upoređivanje sa meziodistalnim širinama zuba pacijenata bez hipodoncije/oligodoncije.

Detaljno su opisane laboratorijske metode, od izolacije DNK kod pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba i PCR-a, pa sve do metode direktnog sekvenciranja i određivanja prisustva RUNX2 i WNT10A mutacija. U kliničkom delu istraživanja opisana je procedura dobijanja digitalnih modela na osnovu gipsanih modela pacijenata a zatim i proces merenja meziodistalnih dimenzija zuba eksperimentalne i kontrolne grupe. Takođe, navedeni su statistički testovi koji su korišćeni u analizi rezultata ovog eksperimenta. Porodice koje su učestvovalе u istraživanju, prikazane su rodoslovnim stablima, sa naznačenim članovima porodica koji imaju urođeni nedostatak zuba, dok je dentalni status pacijenata prikazan uz pomoć ortopantomografskih snimaka i odontograma, sa označenim zubima koji nedostaju.

U poglavlju **Rezultati** prikazane su dobijene srednje vrednosti meziodistalnih dimenzija zuba pacijenata sa hipodoncijom i kontrolne grupe, kod osoba muškog i ženskog pola, kao i sa leve i desne strane zubnog niza. Detektovane nukleotidne izmene prikazane su putem elektroferograma. U drugom delu rezultata koji se odnose na molekularno-genetičke analize, prikazana su rodoslovna stabla porodica koje su učestvovalе u istraživanju i posebno su naznačeni članovi sa urođenim nedostatkom zuba i tipom dobijenih mutacija. Zastupljenost mutacija u analiziranim egzonima RUNX2 i WNT10A gena prikazana je grafikonima.

U **Diskusiji** su dobijeni rezultati kako kliničkog tako i molekularno-genetičkog dela istraživanja analizirani i upoređeni sa dostupnim podacima iz savremene literature. Uzimajući u obzir važnost analiziranih gena u usmeravanju odontogeneze, mutacioni status WNT10A i RUNX2 gena jasno je korelisan sa tipom hipodoncije, odnosno težinom kliničke slike. Takođe, prikazana je molekularna osnova mutacija i njihov uticaj na specifičnost nasleđivanja. S obzirom na činjenicu da postoji mali broj studija koje su se bavile udruženim uticajem oba analizirana gena na hipodonciju, a prvenstveno RUNX2 gena, to ovim rezultatima daje posebnu važnost.

Zaključci predstavljaju jasne odgovore na postavljene ciljeve. Dobijeni rezultati kliničkog dela istraživanja su pokazali da su meziodistalne širine svih zuba pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba bile statistički značajno manje u odnosu na zdrave pacijente kontrolne grupe. Takođe, generalno, između ove dve grupe, nije uočena razlika u veličini zuba u odnosu na pol, odnosno na stranu zubnog niza. U grupi pacijenata sa hipodoncijom/oligodoncijom, najviše su nedostajali gornji lateralni sekutići (35%) i drugi donji premolari (24%).

Kada su u pitanju rezultati molekularno-genetičkog dela istraživanja, uočene su mutacije u oba gena nezavisno u relativno visokom procentu (oko 50%), pri čemu je zapažen i njihov udruženi efekat. Svih 5 dobijenih mutacija u WNT10A genu, osim jedne, predstavljaju "missense" mutacije, koje mogu imati patogeni efekat, odnosno mogu se povezati sa razvojem hipodoncije usled potencijalnih izmena u WNT signalnoj kaskadi. Sa druge strane oskudni podaci o RUNX2 genu u literaturi koja se odnose na hipodonciju, uglavnom pokazuju prisustvo delecionog/insercionog polimorfizma, koji može uticati na njegovu transkripcionu aktivnost, odnosno na nemogućnost aktivacije gena odgovornih za odontogenezu. Takođe, pokazana je asocijacija između dobijenih mutacija i manje veličine zuba.

Literatura sadrži 188 referenci iz savremene i značajne literature vezane za istraživanu naučnu oblast.

ZAKLJUČAK

Doktorska disertacija pod nazivom "**UTICAJ MUTACIJA RUNX2 I WNT10A GENA NA BROJ I VELIČINU ZUBA**" dr Marije Živković Sandić predstavlja značajan i originalan naučni doprinos u istraživanjima genske osnove urođenog nedostatka zub i njene povezanosti sa anomalijama veličine zuba. Hipodoncija predstavlja genotipski i fenotipski heterogenu anomaliju uzrokovanu genetskim faktorima i faktorima sredine koji u svom sadejstvu dovode do različitih fenotipskih obeležja. Poslednjih decenija identifikovani su brojni geni koji se povezuju sa nastankom hipodoncije ali je njihova uloga i dalje nedovoljno rasvetljena. Mutacije RUNX2 i WNT10A gena prisutne su u visokom procentu kod pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba, što potvrđuje njihovu ulogu u patogenezi ove anomalije. S obzirom na to da su se mutacije RUNX2 gena do sada najviše vezivale za nastanak kleidokranijalne

displazije, koju između ostalog karakteriše postojanje prekobrojnih zuba, saznanja o njegovoj ulozi u nastanku izolovane hipodoncije, predstavlja značajan doprinos naučnoj literaturi. Takođe, rezultati kliničkog dela istraživanja, značajno će olakšati terapijski proces kod pacijenata sa urođenim nedostatkom zuba, koji je i inače individualan, kompleksan i uključuje saradnju više stomatoloških grana.

Ova doktorska disertacija je uradjena prema svim principima naučnog i eksperimentalnog istraživanja, sa precizno definisanim ciljevima, originalnim naučnim pristupom, aktuelnom metodologijom rada, adekvatno prikazanim i diskutovanim rezultatima, i jasno uobličenim zaključcima.

Na osnovu svega navedenog, a imajući u vidu dosadašnji naučni rad kandidata, komisija jednoglasno i sa zadovoljstvom predlaže Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta u Beogradu da prihvati pozitivan izveštaj doktorske disertacije dr Marije Živković Sandić pod nazivom **"UTICAJ MUTACIJA RUNX2 I WNT10A GENA NA BROJ I VELIČINU ZUBA"** i odobri njenu javnu odbranu.

U Beogradu, 17.06.2016.

ČLANOVI KOMISIJE

Prof dr Ivana Šćepan

Prof dr Marko Babić

Prof dr Predrag Vučinić