

**НАСТАВНО – НАУЧНОМ ВЕЋУ СТОМАТОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА
УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ**

Наставно-научно веће Стоматолошког факултета, Универзитета у Београду, је на V редовној седници у школској 2018/2019. години, одржаној 09.04.2019. године именовала комисију у саставу:

1. проф. др Тамара Перић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
2. проф. др Јелена Милашин, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
3. проф. др Славољуб Живковић, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду
4. научни саветник др Марина Соковић, Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитет у Београду и
5. научни сарадник др Бојана Ћетеновић, Институт за нуклеарне науке - Винча, Универзитет у Београду

за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом: **„Утицај фотодинамске терапије и диодног ласера на успешност ендодонтског лечења младих сталних зуба и биостимулацију матичних ћелија пореклом из апикалне папиле“.**

Кандидат: др Дијана Тришић

Ментори: Проф. др Дејан Марковић

Проф. др Бранка Поповић

На основу прегледа приложеног материјала, комисија подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

Кандидат др Дијана Тришић је рођена 12.11.1987. у Мостару. Стоматолошки факултет Универзитета у Београду уписала је 2006. године, а дипломирала 2012. године са просечном оценом 9,18. Током студирања била је стипендиста задужбине Драгољуба Маринковића. Након завршених студија, обавила је приправнички стаж и положила стручни испит. Докторске академске студије на Стоматолошком факултету Универзитета у Београду

уписала је 2013. године, изборно подручје Базична и клиничка истраживања у стоматологији. Положила је све испите предвиђене планом и програмом докторских академских студија са просечном оценом 10,00.

Школске 2015/2016 и 2016/2017 била је ангажована у обављању практичне наставе на предмету Општа и орална патологија. Од новембра 2018. године запослена је као истраживач сарадник на пројекту Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије, ев. бр. 1720126: Хемијско и структурно дизајнирање наноматеријала за примену у медицини и инжењерству.

Кандидат др Дијана Тришић до сада је публиковала 6 радова на *SCI* листи, 3 рада у часописима од националног значаја, 18 саопштења на међународним скуповима, и 6 саопштења на домаћим скуповима. Стручна комисија *22nd BaSS* конгреса одржаног у Солуну 2017. године доделило јој је награду за усмену презентацију рада под насловом *Real-time thermographic analysis of high-power diode lasers application in endodontic treatment of young permanent teeth*. Члан је Српског лекарског друштва, Стоматолошке коморе Србије и Друштва генетичара Србије.

А. Приказ садржаја докторске дисертације

Докторска дисертација др Дијане Тришић написана је на 134 стране, и садржи следеће делове: апстракт на српском и енглеском језику, увод, хипотезу и циљеве истраживања, материјале и методе, резултате, дискусију, закључке и литературу. Документована је са 8 табела, 19 графикана и 18 слика.

У **Уводу** кандидат описује механизам развоја корена сталних зуба, значај матичних ћелија пореклом из апикалне папиле, и проблематику ендодонтског лечења младих сталних зуба. С обзиром на комплексност развоја корена зуба и анатомију каналног система корена, описани су недостаци стандардних протокола ендодонтског лечења у постизању обескличења и стварања повољних услова за регенерацију. Потенцијал примене ласера у ендодонтском лечењу је објашњен са аспекта механизма дејства и очекиваних предности у односу на конвенционалне терапијске могућности. Кроз преглед литературе приказани су досадашњи резултати *in vitro* и *in vivo* студија биокомпатибилности и антимикробног дејства диодних ласера велике снаге и фотодинамске терапије.

У поглављу **Циљеви истраживања** јасно су наведени циљеви студије и хипотеза истраживања:

- изолација и карактеризација матичних ћелија из ткива апикалне папиле зуба,
- испитивање биокомпатибилности диодног ласера и фотодинамске терапије на ћелијама из ткива апикалне папиле зуба,
- испитивање потенцијалног биостимулативног дејства диодног ласера и фотодинамске терапије на ћелијама из ткива апикалне папиле зуба,
- испитивање успешности обескличења канала корена применом диодног ласера и фотодинамске терапије, у односу на стандардна антимикробна средства, методом култивације узорака на микробиолошким подлогама,
- испитивање успешности обескличења канала корена применом диодног ласера и фотодинамске терапије, у односу на стандардна антимикробна средства и идентификација специфичних врста бактерија из узорака молекуларно-генетичким методама,
- праћење успешности лечења младих сталних зуба, применом диодног ласера и фотодинамске терапије, у односу на стандардна антимикробна средства, на основу клиничких знакова и симптома, 6 месеци након терапије,
- испитивање антимикробног дејства ендодонтских материјала за дефинитивну оптурацију на изолате из канала корена младих сталних зуба.

Радна хипотеза истраживања: Диодни ласер (940 nm) и фотодинамска терапија, као допуна стандардном протоколу ендодонтског лечења, доводе до ефикаснијег обескличења канала корена младих сталних зуба, и повољно утичу на усмеравање и сазревање матичних ћелија пореклом из апикалне папиле.

Материјали и методе се састоје из целина које одговарају фазама лабораторијских и клиничких испитивања. Детаљно је описан протокол изолације и карактеризације ћелија, као и дизајн студије за *in vitro* испитивања биокомпатибилности и фотобиостимулације матичних ћелија. На окарактерисаним матичним ћелијама пореклом из апикалне папиле биокомпатибилност ласера испитана је тестом митохондријске активности (*MTT*) и директним тестом вијабилности ћелија (*NR*). Дејство ласера на потенцијал миграције испитано је тестом огреботине, док је утицај на потенцијал остеогеног усмеравања испитан

мерењем алкалне фосфатазе, бојењем Ализарин црвеним, као и испитивањем релативне генске експресије и имуноцитохемијски за маркере одонто/остеогеног усмеравања. Дизајн рандомизоване контролисане клиничке студије је описан темељно, уз детаљно наведен протокол клиничке примене фотодинамске терапије и диодног ласера велике снаге. У рандомизованој контролисаној клиничкој студији, пацијенти су распоређени у 3 огледне групе. Микробиолошки узорци су узимани на почетку лечења и након сваке примењене терапијске процедуре. Анализа микробиолошких узорака је урађена култивацијом на хранљивим подлогама (CFU/ml) и молекуларно-генетичким методама (*PCR* и *qPCR*). Испитивање антимикубног дејства калцијум хидроксида, минералног триоксидног агрегата и калцијум силиката обogaћеног бизмут-оксидом је урађено на клиничким изолатима методом двослојног агар дифузионог теста.

У поглављу **Резултати** прво су приказани резултати карактеризације ћелија из ткива апикалне папиле који су документовани графички и сликовито. Маркери мезенхималних матичних ћелија (CD 105, CD 90 и CD 73) су били високо позитивно испољени (98 - 99%) на мембранама ћелија из узорка. Такође, ћелије су усмерене ка остеогеној, адипогеној и хондрогеној ћелијској лози, чиме је и квалитативно потврђено да се ради о култури мезенхималних матичних ћелија. Потом су графички и сликовито приказани резултати *in vitro* испитивања биокомпатибилности, као и биостимулације ка диференцијацији ћелија. Показано је да резултати зависе од испоручене снаге за ласер велике снаге, односно од концентрације органске боје за фотодинамску терапију. Тестови биокомпатибилности показали су да одабрани параметри оба ласера утичу на повећану митохондријску активност и пролиферацију ћелија. Биостимулативно дејство након излагања ћелија дејству оба ласера показано је у виду брже миграције ћелија, повећаног стварања алкалне фосфатазе, депоновања калцијума у ванћелијском матриксу, као и повећаном експресијом гена и стварања протеина специфичних за ћелије диферентоване ка остео/одонтобластима. Антимикубно дејство стандардне ендодонтске терапије, ласера велике снаге и фотодинамске терапије приказани су графиконима, табеларно и сликовито. Анализа микробиолошких узорака из клиничке студије показала је да се након стандардне механичко-медикаментозне обраде канала број микроорганизама значајно смањило у свим групама. Антимикубно дејство ласера се показало значајним у смањењу укупног броја бактерија, као и смањењу броја зуба позитивних на присуство бактерија. Након додатног

обескличења ласерима је нађено значајно смањење позитивних узорака на бактеријске врсте *P. micros*, *T. forsythia* и *P. endodontalis*. Антимикробно дејство материјала за дефинитивну оптурацију канала корена описани су и приказани графички. Инхибиција раста испитиваних бактерија показана је у присуству материјала за дефинитивну оптурацију канала корена. Током времена примећен је тренд опадања инхибиционих зона раста.

Дискусија је подељена у целине о изолацији, карактеризацији матичних ћелија, *in vitro* испитивању биокомпатибилности и биостимулативном потенцијалу ласера у ендодонтској терапији, фототермалном дејству ласера велике снаге, антимикробном дејству ласера у клиничким условима, и антимикробном дејству материјала за дефинитивну оптурацију канала на клиничким изолатима. У овом поглављу кандидат тумачи добијене резултате и пореди их са резултатима досадашњих релевантних истраживања која су се бавила сличном проблематиком, и даје смернице за даља истраживања. С обзиром на то да постоји ограничен број студија које су се бавиле испитивањем антимикробног дејства ласера у стоматологији, као и студија из области *in vitro* испитивања биостимулације матичних ћелија ласерима, то овим резултатима даје посебну тежину.

Закључци пружају одговоре на постављене циљеве и јасно су формулисани. Кандидат наводи да су изоловане ћелије мултипотентне мезенхималне матичне ћелије, те да је показана задовољавајућа биокомпатибилност примењених ласера поштујући протокол рада током ендодонтске ласерске терапије. Биостимулативно дејство диодног ласера велике снаге и фотодинамске терапије огледа се у стварању важних протеина и повећаној експресији гена карактеристичних за зреле ћелије одонто/остеогене лозе, као и у депоновању минерализованог ванћелијског матрикса у значајно већој мери у односу на нетретирание ћелије. Примена диодног ласера велике снаге и фотодинамске терапије показала се веома значајом у смањењу броја узорака позитивних на присуство вијабилних бактерија у клиничким условима. Судаћи по добијеним резултатима најбоље антимикробно дејство се постиже применом фотодинамске терапије као додатне методе обескличења у ендодонтском лечењу. Значајно антимикробно дејство огледало се и у значајној редукцији Грам позитивних врста бактерија у каналима коренова, а које су показале отпорност на стандардна средства обескличења. У периоду клиничког праћења пацијената показало се да

примена ласера у ендодонтском лечењу младих сталних зуба представља безбедну методу, која уколико се поштују прописани протоколи лечења не доводи до нежељених, патолошких промена на корену зуба и пародонцијуму, већ омогућава излечење и зарастање ткива на месту примене. Испитивани материјали за дефинитивну оптурацију делују додатно антимикробно на изолате из канала корена младих сталних зуба, те представљају значајан део синергистичког антимикробног дејства током ендодонтског лечења младих сталних зуба.

Литература садржи 205 библиографских јединица из релевантне литературе.

Б. Објављени радови и саопштења који чине део докторске дисертације

Публиковани радови:

1. **Trišić D**, Ćetenović B, Zdravković N, Marković T, Dojčinović B, Jokanović V, Marković D. Antibacterial effects of new endodontic materials based on calcium silicates. *Vojnosanit pregl*; **2019**; doi:10.2298/VSP161231130T (M23)
2. **Trišić D**, Ćetenović B, Jovanović I, Gjorgievska E, Popović B, Marković D. Diode laser irradiation in endodontic therapy through cycles - *in vitro* study. *Balk J Dent Med*, **2017**; 21:108-111. (M53)
3. Marković D, Rakašević D, **Trišić D**. Application of High-Power Diode Laser and Photodynamic Therapy in Endodontic Treatment - Review of the Literature. *Balk J Dent Med*, **2015**; 19:71-74. (M53)

Саопштења на међународним и домаћим скуповима штампана у изводу:

1. **Trišić D**, Jovanović I, Orhan K, Marković D. Real-time thermographic and dentine structure analysis of mature and young permanent teeth treated with 940 nm and 975 nm diode lasers. 5th EADMFR Junior Meeting. Budapest, **2018**. Abstract book: 15 (M34)
2. **Тришић Д**, Марковић Д. Конвенционална и савремена средства за обескличење канала корена младих сталних зуба. Трећи конгрес дечије стоматологије са интернационалним учешћем. Београд, **2017**. (M34)

3. Марковић Д, Тришић Д, Ћетенковић Б. Регенеративна ендодонтска терапија повређених зуба. Трећи конгрес дечије стоматологије са интернационалним учешћем. Београд, **2017**. (M34)
4. Марковић Д, Тришић Д. Примена ласера у дечијој стоматологији. VIII интернационални симпозијум доктора стоматологије Републике Српске. Фоча, **2017**; Књига апстраката: 14-15. (M32)
5. **Trišić D**, Toljić B, Popović B, Milašin J, Marković D. Photobiomodulation of stem cells from apical papilla with high-power diode laser. AARC – 2nd PhD Student's Conference, From food to health, Trieste, Italy, August 28-30, **2017**; Abstract book:75-77 (M34)
6. **Trišić D**, Ćetenović B, Jovanović I, Gjorgievska E, Marković D. Real-time thermographic analysis of high-power diode lasers application in endodontic treatment of young permanent teeth. 22nd BaSS Congress, Thessaloniki, **2017**; Abstract book: 176. (M34)
7. **Trišić D**, Lazarević M, Jokanović V, Marković D. Biostimulative effects of diode laser on stem cells from apical papilla (SCAP) in tissue engineering. Third regional roundtable: Refractory, process industry, nanotechnologies and nanomedicine. Belgrade, **2017**; Abstract book: 103. (M34)
8. **Trišić D**, Lazarević M, Milošević M, Milosavljević A, Simonović J, Toljić B, Popović B, Marković D, Milašin J. Effect of diode laser irradiation on osteogenic differentiation of stem cells from apical papilla, 1st Congress of Molecular Biologists of Serbia. Belgrade, **2017**; Abstract book: 172. (M34)
9. **Trišić D**, Toljić B, Milošević M, Simonović J, Lazarević M, Popović B, Marković D, Milašin J. Cells from apical papilla differently express mesenchymal stem cell markers depending on patient's age and passage number. 11th Balkan Congress of human genetics, Belgrade **2015**; Abstract Book: 87. (M34)

В. Закључак (образложење научног доприноса)

Докторска дисертација др Дијане Тришић представља добро дизајнирану студију која даје значајан допринос у области проучавања биокompatбилности и биостимулације ткива ласерима у ендодонској терапији младих сталних зуба. С обзиром на то да су постављени циљеви проучени одговарајућим научним методама, резултати јасно представљени и интерпретирани, а дискусија детаљна и свеобухватна, комисија сматра да комплексност ове дисертације указује на научну зрелост кандидата. Након увида у достављени текст,

комисија је једногласно оценила да докторска дисертација под називом „Утицај фотодинамске терапије и диодног ласера на успешност ендодонтског лечења младих сталних зуба и биостимулацију матичних ћелија пореклом из апикалне папиле“ др Дијане Тришић представља оригинално, самостално и добро документовано истраживање.

Докторска дисертација испуњава све критеријуме прописане Законом о Универзитету и статутима Универзитета и Стоматолошког факултета у Београду. На основу изнетог, предлагемо Наставно-научном већу Стоматолошког факултета Универзитета у Београду да прихвати извештај и одреди датум јавне одбране ове докторске дисертације.

У Београду, _____

Чланови комисије:

Проф. др Тамара Перић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Јелена Милашин

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Проф. др Славољуб Живковић

Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду

Научни саветник др Марина Соковић

Институт за биолошка истраживања „Синиша Станковић“, Универзитет у Београду

Научни сарадник др Бојана Ћетеновић

Институт за нуклеарне науке - Винча, Универзитет у Београду