

НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ УНИВЕРЗИТЕТА У БЕОГРАДУ - БИОЛОШКОГ ФАКУЛТЕТА

На IV редовној седници Наставно-научног већа Универзитета у Београду - Биолошког факултета, одржаној 24.01.2020. године, на основу молбе ментора, др Јелене Кнежевић-Вукчевић, редовног професора Универзитета у Београду - Биолошког факултета и др Јелене Милашин, редовног професора Универзитета у Београду - Стоматолошког факултета, одређена је Комисија за преглед и оцену докторске дисертације Ибрахима Јоусиф Каноша под насловом **„Присуство оралних патогених микроорганизама у атерому и тромбу пацијената са атеросклерозом и инфарктом миокарда“** („**Presence of oral pathogenic microorganisms in atheroma and thrombus of patients with atherosclerosis and myocardial infarction**“), у саставу:

1. др Јелена Кнежевић-Вукчевић, редовни професор, Универзитет у Београду - Биолошки факултет, ментор;
2. др Јелена Милашин, редовни професор Универзитета у Београду - Стоматолошки факултет, ментор
3. др Душан Павлица, редовни професор Универзитета у Београду - Стоматолошки факултет, члан.

Комисија је прегледала урађену докторску дисертацију кандидата и Наставно-научном већу Универзитета у Београду - Биолошког факултета подноси следећи

ИЗВЕШТАЈ

Општи подаци о докторској дисертацији

Докторска дисертација Ибрахима Каноша (Ibrahim Yousif Kannosh) под насловом **„Присуство оралних патогених микроорганизама у атерому и тромбу пацијената са атеросклерозом и инфарктом миокарда“** („**Presence of oral pathogenic microorganisms in atheroma and thrombus of patients with atherosclerosis and myocardial infarction**“) написана је на енглеском језику и технички уређена по новим правилима Универзитета у Београду. Текст дисертације има 67 страна и садржи 24 слике и 14 табела. Подељен је на седам поглавља: **Увод** (16 страна), **Циљеви истраживања** (1 страна), **Материјал и методе** (11 страна), **Резултати** (21 страна), **Дискусија** (7 страна), **Закључци** (1 страна) и **Литература** (10 страна), са 127 библиографских јединица. Поред наведеног, дисертација садржи насловну страну на српском и енглеском језику, податке о менторима и члановима комисије, Захвалницу, Сажетак на српском и енглеском језику, Садржај, Биографију, Изјаву о ауторству, Изјаву о истоветности штампане и електронске верзије докторског рада и Изјаву о коришћењу.

Анализа докторске дисертације

Поглавље **Увод** је организовано у четири целине које на јасан и систематичан начин дају преглед основних сазнања о вези између кардиоваскуларних обољења и пародонтопатије. У првом делу Увода кандидат износи прецизне податке о епидемиологији кардиоваскуларне болести (КВБ), која се сматра водећим узрочником морталитета и морбидитета у свету, и дефинише поремећаје који се сврставају у КВБ (хипертензија, коронарна болест срца, конгестивна срчана инсуфицијенција, мождани удар, инфаркт миокарда). Наводи такође да је у основи ових обољења најчешће атеросклероза, чије механизме настанка затим објашњава, а као једне од узрочника атеросклерозе помиње и микроорганизме пореклом из усне дупље. Следећи део се детаљно бави описивањем свих аспеката пародонтопатије, као једног од инфективних обољења са највишом инциденцијом у светској популацији. У овом делу објашњени су механизми формирања оралног биофилма и различити фактори који на њега утичу, затим шта су примарни и секундарни колонизатори и коначно начин на који субгингивални филм, током развоја пародонтопатије, од заједнице претежно аеробних, постаје заједница анаеробних микроорганизама. У наредном делу кандидат темељно описује основне групе микроорганизама које се доводе у везу са гингивитсом и пародонтитисом, као и начин на који остварују свој патогени ефекат. Уз одговарајуће микрографије, кандидат наводи најбитније биолошке карактеристике анаеробних и факултативно анаеробних бактерија укључених у патогенезу пародонтопатије: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* и *Tannerella forsythia*. Последњи део Увода посвећен је описивању механизма којима патогени микроорганизми усне дупље, пре свега субгингивалног плака, могу довести до атеросклерозе, односно формирања атеросклеротских плакова на крвним судовима особа оболелих од пародонтопатије. Иако се бактерије сматрају главним микроорганизмима укљученим у настанак атеросклерозе, кандидат се осврће и на улогу вируса, пре свега хуманог цитомегаловируса, у етиопатогенези овог мултифакторског обољења.

У оквиру поглавља **Циљеви истраживања** укратко су представљени главни циљеви докторске дисертације: одређивање епидемиолошких и социодемографских карактеристика пацијената са пародонтопатијом и атеросклерозом; утврђивање учесталости пародонталних патогена *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* и *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* у усној дупљи и у крвним судовима пацијената са атеросклерозом; поређење заступљености ових микроорганизама код млађих и старијих пацијената; утврђивање учесталости поменутих пародонталних патогена у узорцима тромба код мањег броја пацијената са инфарктом миокарда; поређење учесталости оралних патогена и хуманог цитомегаловируса у атеросклеротичним крвним судовима и тромбовима код поменутих пацијената са инфарктом миокарда.

Поглавље **Материјал и методе**, које има шест целина, прво описује начин одабира пацијената, односно дијагностичке поступке којима је утврђено присуство пародонтопатије и атеросклерозе, затим набраја крвне судове захваћене атеросклерозом

који су укључени у студију и објашњава који су епидемиолошки параметри узимани из болесничких картона за потребе докторске дисертације. Следи део који описује поступак изоловања ДНК из узорака крвних судова и брисева субгингивалног плака, а затим део у којем су објашњени и табеларно приказани услови под којима су амплификоване секвенце генома испитиваних микроорганизама, као и прајмери специфични за врсту који су коришћени у реакцијама амплификације (PCR). У следећој целини описан је принцип електрофорезе у полиакриламидном гелу, као и услови под којима је она рађена у конкретним експериментима, а као илустрација дата је слика једног од гелова обојених етидијум бромидом на ком се јасно виде траке које означавају присуство микроорганизама. Наредна целина детаљно описује принцип на ком почива метода квантитативног PCR у реалном времену (Real-time quantitative PCR) и начин на који је она коришћена у поступку квантификације микроорганизама у узорцима. Дате су слике које илуструју принципе рада апарата за qPCR и мерења флуоресценције у реалном времену током амплификације, као и формула по којој је одређиван број бактерија у узорцима. У последњем делу набројани су статистички тестови коришћени у раду, као и софтер који је послужио у обради података.

У поглављу **Резултати** кандидат у четири целине концизно и јасно приказује своје резултате, уз прегледне табеле и одговарајуће графике (слике). У првој целини изложени су детаљни подаци о полу и узрасту пацијената и њиховој подели на две групе на основу година старости и на шест група на основу крвног суда у коме се налазио атероматозни плак. У овом делу резултата је анализирана асоцијација између типа артерија захваћених атеросклерозом и пушења, конзумирања алкохола, нивоа оралне хигијене, нивоа образовања, личне и породичне анамнезе. У склопу анамнезе, посебна пажња посвећена је вези између атеросклерозе и постојања хипертензије и дијабетеса типа 2, као и ендокринолошких, имунолошких и хематолошких обољења, али статистички значајне разлике између група ни по једном параметру нису нађене. Међутим, нађена је статистички значајна разлика између старосних група у односу на постојање хипертензије, дијабетеса типа 2 и породичне историје кардиоваскуларних обољења, који су били чешћи у групи старијих пацијената. У наредном делу кандидат даје укупну учесталост испитиваних пародонталних патогена у субгингивалном плаку (у 91% узорака) и атероматозном плаку (у 65% узорака), као и заступљеност појединачних врста у испитиваним узорцима. Нађене учесталости по опадајућим вредностима у субгингивалном плаку, односно крвним судовима биле су следеће: *T. forsythia* (76% односно 53%), *P. intermedia* (71% односно 31%), *P. gingivalis* (60% односно 38%), *A. actinomycetemcomitans* (39% односно 14%) and *T. denticola* (21% односно 6%). Кандидат је на основу односа њихових учесталости у усној дупљи и крвним судовима, установио да су неке бактерије имале већу способност инвазије крвних судова од других, наиме најзаступљенија бактерија у обе врсте узорака била је *T. forsythia*, а најређа *T. denticola*. Такође је показао да су се и различити крвни судови разликовали по колонизованости од стране бактерија. Редослед атеросклеротских крвних судова према опадајућој учесталости оралних патогена је био следећи: коронарна артерија > каротидна артерија > абдоминална артерија > артерија мамарија > феморална артерија > илијачна артерија, из чега је видљиво да са удаљеношћу од

резервоара микроорганизама (усне дупље) опада степен колонизације крвног суда. У овом делу Резултата кандидат је показао и разлике у заступљености појединих микроорганизама у зависности од старости пацијената. Занимљиво је да није постојала статистички значајна разлика у укупној учесталости микроорганизама између две старосне групе, иако се са старењем учесталост појединих бактерија незнатно променила. Наиме, опадајућа инциденција бактерија код млађих пацијената била је: *T. forsythia* > *P. intermedia* > *P. gingivalis* > *A. actinomycetemcomitans* > *T. denticola*, док је код старијих била: *T. forsythia* > *P. gingivalis* > *P. intermedia* > *A. actinomycetemcomitans* > *T. denticola*. У последње две целине изнети су резултати анализе присуства оралних патогена у узорцима тромбова код пацијената са инфарктом миокарда и упоређени са резултатима добијеним за крвне судове. Иако није нађена статистички значајна разлика у укупном садржају бактерија између ове две групе узорака, квалитативна анализа је показала суптилне разлике у заступљености појединих бактеријских врста. Занимљив је и налаз да је цитомегаловирус био чешћи у тромбу него у атерому пацијената са инфарктом миокарда.

У поглављу **Дискусија** кандидат је добијене резултате критички разматрао и упоређивао са досадашњим истраживањима у овој области. Без обзира на велики број радова на ову тему, и даље су присутне контроверзе, и кандидат је јасно показао да су његови резултати са неким литературним подацима у сагласности, док су са другима у супротности. То је протумачио популационим разликама, односно специфичностима одређеног географског подручја и етничке припадности испитаника, али и разликама у методологији коришћеној у идентификацији микроорганизама. Одређени аспекти истраживања су потпуно оригинални, па није било могуће њихово поређење са литературним подацима (нпр. промена учесталости оралних патогених бактерија у крвним судовима током старења, промена учесталости бактерија у крвним судовима у зависности од удаљености крвног суда од усне дупље као резервоара микроорганизама и др.). На крају Дискусије кандидат предлаже даља истраживања, која би могла да допринесу још потпунијем разумевању улоге пародонталних патогена у етиологији атеросклерозе и инфаркта миокарда.

У поглављу **Закључци** сумирани су и јасно и таксативно наведени најзначајнији резултати докторске дисертације.

У поглављу **Литература**, наведено је 127 радова из области истраживања које је кандидат користио као изворе током израде докторске дисертације.

Резултате своје докторске дисертације кандидат је публиковао у два рада у међународним часописима категорије М23 и једном саопштењу на домаћем научном скупу штампаном у изводу (категорија М64).

Радови и конгресна саопштења из докторске дисертације:

Б1. Радови у часописима међународног значаја

Danijela Staletović, **Ibrahim Kannosh**, Meliha Šehalić, Vladanka Vukićević, Zoraida Milojković, Aleksandra Ilić, Verica Pavlić, Zlata Brkić. Presence of *Tannerella forsythia* in patients with chronic periodontal disease and atherosclerosis. Vojnosanitetski pregled: Military Medical and Pharmaceutical Journal of Serbia, Online First July, **2018** DOI: <https://doi.org/10.2298/VSP180321121S> (M23)

Ibrahim Kannosh, Danijela Staletovic, Bosko Toljic, Milena Radunovic, Ana Pucar, Sanja Matic Petrovic, Ivana Grubisa, Milos Lazarevic, Zlata Brkic, Jelena Knezevic-Vukcevic, Jelena Milasin. The presence of periopathogenic bacteria in subgingival and atherosclerotic plaques – An age related comparative analysis. Journal of Infection in Developing Countries, **2018**; 12(12):1088-1095. DOI: <https://doi.org/10.3855/jidc.10980> (M23)

Б3. Конгресна саопштења

Ibrahim Kannosh, Danijela Staletovic, Bosko Toljic, Milica Petrovic, Ivana Grubisa, Jelena Milasin. Incidence of oral pathogens in blood vessels of patients with atherosclerosis - age related changes. First Congress of Molecular Biologists of Serbia with international participation - CoMBoS 20 – 22 September 2017, Belgrade, Serbia (M64)

Провера оригиналности докторске дисертације

Докторска дисертација кандидата Ибрахима Каноша (Ibrahim Yousif Kannosh), под насловом "Presence of oral pathogenic microorganisms in atheroma and thrombus of patients with atherosclerosis and myocardial infarction", подвргнута је електронској провери обима и садржине подударача текста са текстовима који су у Универзитетској библиотеци „Светозар Марковић“ доступни за поређење. Резултати електронске провере показују да индекс подударности износи 31%. Међутим, назначени делови текста највише се односе на методологију рада (медијуми, PCR и qPCR процедуре, прајмери итд) и ако се методологија искључи тада је индекс подударности 21%. Преостале подударности се односе на лична имена, латинска имена, дефиниције обољења која се истражују (атеросклероза, коронарна болест срца, пародонтопатија, инфекција, инфламација), коришћење стандардних израза и кратких фраза уобичајених у енглеском језику, на цитирање литературе, као и на цитирање резултата до сада публикованих од стране докторанда. Осим тога, ни у једном случају подударност не прелази 1%. С обзиром на то, а у складу са чланом 8. став 2. Правилника о поступку провере оригиналности докторских дисертација које се бране на Универзитету у Београду, Комисија закључује да је докторска дисертација кандидата Ибрахима Каноша оригинална, као и да су у потпуности поштована академска правила цитирања.

Мишљење и предлог Комисије:

На основу изложене анализе докторске дисертације кандидата Ибрахима Каноша под насловом „**Присуство оралних патогених микроорганизама у атерому и тромбу пацијената са атеросклерозом и инфарктом миокарда**“ („**Presence of oral pathogenic microorganisms in atheroma and thrombus of patients with atherosclerosis and myocardial infarction**“) Комисија закључује да су у дисертацији примењене савремене и адекватне методе и да су постављени циљеви и задаци успешно остварени. Постигнути резултати су оригинални и представљају допринос расветљавању етиопатогенезе атеросклерозе и улоге коју у том процесу играју микроорганизми субгингивалног плака који леже у основи пародонтопатије. Још једном се јасно указује на везу између оралног и системског здравља. Добијени резултати су показали да различите бактерије имају различит потенцијал инвазије крвних судова и да се са старењем састав заједнице микроорганизама мења, што дисертацији даје и практичан значај. Наиме, с обзиром на изузетно високу инциденцију пародонтопатије на светском нивоу, потребно је пронаћи најадекватније терапијске модалитете прилагођене не само специфичним бактеријским врстама, него и старосној доби пацијената да би се постигли што бољи ефекти.

На основу свега изнетог, предлажемо Наставно-научном већу Биолошког факултета да прихвати овај извештај и кандидату Ибрахиму Каношу (Ibrahim Kannosh) одобри јавну одбрану докторске дисертације пред комисијом у истом саставу.

У Београду, 31.01.2020. године

КОМИСИЈА:

др Јелена Кнежевић-Вукчевић, редовни професор
Универзитет у Београду - Биолошки факултет

др Јелена Милашин, редовни професор
Универзитет у Београду - Стоматолошки факултет

др Душан Павлица, редовни професор
Универзитет у Београду - Стоматолошки факултет