

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПРИМЉЕНО:	23. 12. 2020
Орг. јед.	
05	12672

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ И ОДБРАНУ ЗАВРШЕНЕ ДОКТОРСКЕ
ДИСЕРТАЦИЈЕ**

На седници Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, одржаној дана 18.11.2020, одлуком број IV-03-830/15 формирана је Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације под називом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању колонизације протеза гљивама рода *Candida*“ кандидаткиње Милице Ишљаковић, у следећем саставу:

1. **Проф. др Раде Живковић**, ванредни професор Стоматолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Клиничке стоматолошке науке, председник
2. **Проф. др Сузана Оташевић**, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан
3. **Доц. др Марко Милосављевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Стоматолошка протетика, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију кандидаткиње Милице Ишљаковић и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација кандидаткиње Милице Ишљамовић под називом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању колонизације протеза гљивама рода *Candida*“, урађена под менторством проф. др Јелене Тодић, ванредног професора Медицинског факултета Универзитета у Приштини са привременим седиштем у Косовској Митровици, представља оригиналну научну студију која се бави испитивањем могућности модификације акрилата антигљивичним супстанцама у циљу спречавања колонизације материјала за израду протеза гљивама рода *Candida*.

Више од 75% носилаца мобилних зубних протеза пати од протезног стоматитиса гљивичне етиологије. Протезе утичући на природу микроокружења усне шупљине, условљавају прекомерно размножавање гљива рода *Candida*, које су присутне у микробиоту. Најчешћи изоловани узрочник је врста *Candida albicans*.

Мобилне зубне протезе се израђују од топлополимеризујућег акрилата, полиметил метакрилата- (ПММА). Као материјал, ПММА је пријемчив за колонизацију гљивама рода *Candida*. Услед хидрофобности и храпавости површине, зубне протезе представљају погодан супстрат за адхеренцију гљива у усној дуољи. Врста *C. albicans* се електростатичким интеракцијама припаја за површину и колонизује протезу и ствара биофилм на њој. Протезе тако делују као извор инфекције што даље доводи до сталне реинфекције палатиналне слузокоже и развоја протезног стоматитиса.

Проблем у терапији протезног стоматитиса је резистенција гљива на антигљивичне лекове, као и немогућност постизања ефикасних концентрација антигљивичних лекова на унутрашњој страни протезе. Осим тога, услед перзистенције инфекције, као последице формираног биофилма на површини протезе, третман протезног стоматитиса је најчешће безуспешан. Употреба средстава за дезинфекцију протеза као што су што су хлорхексидин и натријум хипохлорит, оштећују површинску структуру акрилата, мењају механичке и физичке карактеристике и повећавају храпавост површине. Такође, ефикасност ових средстава је недовољна с обзиром да гљиве могу продрети дубље у акрилат те их је теже уклонити, а храпава површина поспешује реколонизацију гљивама и формирање биофилма. С обзиром да је слаба ретенција предиспонирајући фактор у патогенези протезног стоматитиса, посебна пажња је усмерена ка побољшању ретенције протеза подлагањем лајнерима и ткивним кондеционерима. У литератури се наводи покушај

додатка антимикробних супстанци у лајнере и ткивне кондеционере како би се постигла антигљивична својства и спречило формирање биофилма. Међутим, недостатак лајнера је то што временом губе пластификаторе и распадају се, због чега површина постаје храпавија и тако пријемчивија за колонизацију гљива. С друге стране, ткивни кондеционери су намењени за краткотрајну употребу јер се оштећења на њиховој површини могу појавити већ након 3 до 4 дана интраоралне употребе. Локална апликација антигљивичних лекова (миконазол, нистатин) не даје резултате, због немогућности постизања терапијске антигљивичне концентрације лека на унутрашњој страни протезе. С обзиром на чињеницу да поменути модалитети нису ефикасни у третману протезног стоматитиса, покушаји решавања овог проблема су усмерени ка модификацији самих акрилатних материјала, пре свега површине акрилата, како би се постигла антигљивична својства материјала и онемогућио процес формирања биофилма на протези. Алтернативна стратегија је коришћење антигљивичних протеза, како би се контролисала болест.

У овој спроведеној експерименталној студији у циљу постизања антигљивичних ефеката акрилата, модификован је хладнополимеризујући акрилат додатком ундецилеинске киселине, фарнезола и њихове комбинације у матрикс полиметилметакрилата (ПММА). Фарнезол и ундецилеинска киселина су јаки фунгистатици или фунгициди који инхибирају формирање биофилма, а осим тога, фарнезол повећава ефикасност конвенционалних антигљивичних супстанци.

Са практичног аспекта добијени резултати ове *in vitro* студије су показали да се превенција и /или терапија протезног стоматитиса може постићи додавањем антигљивичне супстанце у матрикс хладнополимеризујућег акрилата. Поред тога што модификовани хладнополимеризујући акрилати који се користе за подлагање протеза имају антигљивична својства, првенствено унутрашња површина протезе која је у контакту са палатиналном слузокожом, треба истаћи и чињеницу да модификација не компромитује својства зубне протезе.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оригиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Прегледом референтне литературе прикупљене систематским претраживањем биомедицинских база података *Medline*, *ScienceDirect*, *EBSCO* и *KOBSON*, коришћењем следећих кључних речи: *Cold-curing acrylic resin*, *undecyleic acid*, *farnesol*, *C. albicans ATCC 90028*, *candida-associated denture stomatitis*, и међусобним укрштањем сваке од наведених одредница са одредницом *denture*, нису пронађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу наведених чињеница комисија констатује да докторска дисертација кандидаткиње Милице Ишљаковић под насловом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању

колонизације протеза гљивама рода *Candida*“, представља резултат оригиналног научног истраживања.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А) Лични подаци

Милица Ишљамовић рођена је 21. јануара 1982. године у Врању.

Основну школу „Вук Караџић“ завршила је у Врању. Средњу медицинску школу „Сестре Нинковић“ завршила је у Крагујевцу са одличним успехом. Медицински факултет Универзитета у Нишу завршила је 2008. године са просечном оценом 9.59. Приправничко-волонтерски стаж обавила је у Дому здравља у Нишу у периоду 2008/2009. Стручни испит за доктора стоматологије положила је 24.11.2009. године.

Студент је треће године Докторских академских студија, изборно подручје Истраживања у стоматологији.

У току докторских студија, била је стипендиста Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије у периоду од 2009-2012 године и ангажована на 3 пројекта финансирана од стране Министарства за науку и технолошки развој Републике Србије.

Као сарадник у настави била је ангажована на предмету Стоматолошка протетика – претклиника на Медицинском факултету Универзитета у Нишу, од 01.10.2012. до 01.10.2014.

У периоду од 2014 – 2015.године као стипендиста Швајцарске владе - Swiss Government Excellence Research Scholarships, била је ангажована као истраживач на институту Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne, Institut des Matériaux, Laboratoire de Technologie des Poudres, у Швајцарској. На поменутом институту, као гостујући студент, провела је још 6 месеци (март – април 2016; април-јул 2017). Од марта 2017. године изабрана је у звање истраживач-приправник. У Дому здравља у Нишу од априла 2018. године ради на пословима доктора стоматологије.

Положила је све испите предвиђене планом и програмом Академских докторских студија, укључујући и усмени докторски испит. Учествовала је на већем броју домаћих и међународних научних и стручних скупова. До сада је објавила као први аутор/коаутор 19 радова и то из категорије M21 (3), M22 (1), M23(4). Од тога је један рад категорије M21 проистекао из научно истраживачког рада докторске дисертације, што је квалификује да је испунила услове за оцену и одбрану ове докторске дисертације. Говори и пише енглески језик. Има диплому почетног курса норвешког и француског језика.

Б) Списак објављених радова

1. Petrović M, Bonvin D, Hofmann H, Mionić Ebersold M. Fungicidal PMMA-Undecylenic Acid Composites. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):184 **M21**
2. Mionić Ebersold M, Petrović M, Fong WK, Bonvin D, Hofmann H, Milosevic I. Hexosomes with undecylenic acid efficient against *Candida albicans*. *Nanomaterials.* 2018;8(2):91. **M21**
3. Kostić M, Kitić D, Petrović MB, Jevtović-Stoimenov T, Jović M, Petrović A, Živanović S. Anti-inflammatory effect of the *Salvia sclarea* L. ethanolic extract on lipopolysaccharide-induced periodontitis in rats. *J Ethnopharmacol.* 2017;199:52-59. **M21**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Докторска дисертација др Милице Ишљаковић се састоји из основног докторског рада који је написан на 141 страници, садржи 28 слика 6 табела и 24 графикона, насловне странице на српском и енглеском језику, апстракт на српском и енглеском језику и садржаја. Дисертација обухвата следећа основна поглавља: Увод, Хипотезе и циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Поглавље литература садржи 243 цитираних библиографских јединица из иностраних и домаћих научних и стручних публикација.

У уводном делу је кандидаткиња, цитирајући релевантну литературу, изнела досадашња сазнања о протезном стоматитису изазваном гљивама рода *Candida*, клиничком значају гљива врсте *Candida albicans* и оралној кандидијази. Описани су морфолошки облици врсте *Candida albicans* и фазе формирања биофилма на зубној протези. Разматрани су терапијски модалитети протезног стоматитиса, недостаци конвенционалног начина лечења протезног стоматитиса као и проблем резистенције гљива рода *Candida* на антигљивичне лекове. Наведени су савремени приступи и досадашња истраживања у области модификације акрилатних материјала за израду протеза са циљем постизања антигљивичног дејства. Увод се завршава разматрањем научне основе проблема у којој се дефинишу циљеви истраживања. Основни циљ је био да се хладнополимеризујући акрилат који се користи за подлагање зубних протеза модификује додатком антигљивичних супстанци: ундецилеинске киселине, фарнезола и њихове комбинације. Модификација акрилата је за циљ имала антигљивични ефекат на врсту *Candida albicans*, тачније на сесилне ћелије гљива (које су се адхерирале на површину узорака модификованих акрилата) и планктонске, неадхериране ћелије. Антигљивична активност је одређена у 3 временска интервала (одмах након припреме, 6 и 12 дана након припреме материјала). Постављена је хипотеза да се модификацијом постиже антигљивично дејство присуством супстанци на површини акрилата у нативном

облику, што спречава адхеренцију гљива и формирање биофилма на модификованом акрилату. Такође, претпоставило се да модификација повољно утиче на физичка својства материјала, односно повећава хидрофилна својства површине узорака модификованог акрилата. Литературни подаци наводе да хидрофилна површина материјала инхибира адхеренцију гљива за његову површину и формирање биофилма. Да би се тако модификовани акрилати могли примењивати у клиничкој пракси неопходно је да додавање антигљивичних супстанци не ремети биолошки квалитет зубних протеза.

На основу података из референтне литературе изабране антигљивичне супстанце имају фунгистатско, фунгицидно дејство, али и механизам дејства у спречавању преласка гљиве из једноћелијске у вишећелијску, мицелијумску форму раста која је одговорнија за настанак биофилма. Такође, истраживања показују да фарнезол испољава синергистички ефекат са конвенционалним антигљивичним лековима, па се претпоставило да ће у комбинацији са ундецилеинском киселином испољити синергизам, што би омогућило примену нижих концентрација ових антигљивичних супстанци потребних за модификацију акрилата. Све ове хипотезе су потврђене постављањем јасно дефинисаних циљева истраживања.

У поглављу Материјал и методе детаљно су описане све спроведене методе: начин модификације хладнополимеризујућег акрилата антигљивичним супстанцама; метода физичко-хемијске карактеризације површине тако модификованих акрилата; испитивање цитотоксичност модификованих акрилата на хуманим А594 ћелијама помоћу MTS теста, утврђивање антигљивичне активности тестом диск дифузије; ХТТ тестом, односно мерењем метаболичке активности сесилних и планктонских ћелија гљива испитан је ефекат модификованих акрилата на ћелије гљива врсте *C. albicans*; тестом филментације гљива у агару који је посматран оптичким микроскопом утврђен је утицај ових супстанци на форму раста гљива врсте *C. albicans*. Примењене су одговарајуће статистичке методе за процену разлика између експерименталне и контролне групе.

Резултати истраживања су подељени у 3 главна поглавља (физичко-хемијска карактеризација површине модификованих хладнополимеризујућих акрилата, њихова цитотоксичност и антигљивични ефекат). Резултати су описани текстуално и систематично приказани на графиконима, у табелама и одговарајућим сликама. Добијени резултати показују да су антигљивичне супстанце у свом нативном облику присутне на површини узорака модификованих акрилата и да утичу на повећање хидрофиности њихове површине. Модификовани акрилати не показују цитотоксичност при концентрацији < 6% испитиваних супстанци. Модификовани акрилат редукују проценат метаболички активних сесилних и планктонских ћелија у тестираним концентрацијама $\geq 6\%$ ундецилеинске киселине, $\geq 6\%$ фарнезола и $\geq 3\%$ комбинације фарнезол-ундецилеинска киселина у сва 3 дефинисана временска интервала, изузев акрилата модификованих фарнезолом 6 дана након припреме материјала. Ундецилеинска киселина и комбинација фарнезол-ундецилеинска киселина спречавају прелазак гљиве врсте

C. albicans из форме кваснице у форму хифе, док фарнезол инхибише морфогенетску транзицију након 24h инкубације са гљивама.

Поглавље дискусија је написано систематично, стилски уобличено, наводећи преглед литературе са досадашњим научним истраживањима у области модификације акрилата у циљу превенције протезног стоматитиса гљивичне етиологије. Добијени резултати истраживања из ове докторске дисертације су јасно анализирани и поређени са релевантним литературним подацима истраживања других аутора из ове области .

На основу претходно изнетих чињеница Комисија закључује да завршена докторска дисертација кандидаткиње Милице Ишљамовић под називом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању колонизације протеза гљивама рода *Candida*“, по обиму и квалитету израде у потпуности одговара пријављеној теми докторске дисертације.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултати истраживања ове докторске дисертације могу бити формулисани тврдњом да додаток комбинације антигљивичних супстанци: ундецилеинске киселине и фарнезола при концентрацији 3% не ремети биолошки квалитет хладнополимеризујућег акрилата који испољава антигљивичну активност на сесилне и планктонске ћелије гљива и то 12 дана након припреме материјала. Ова тврдња поткрепљена је и следећим закључцима:

- Антигљивичне супстанце ундецилеинска киселина и фарнезол су присутне на површини модификованих акрилата у свом нативном облику
- Додате антигљивичне супстанце побољшавају физичко својство хладнополимеризујућег акрилата мењајући својство квашења, у смислу повећања хидрофилности површине модификованих акрилата у свим тестираним концентрацијама
- Постоји позитивна корелација између повећања хидрофилности површине модификованог акрилата и антигљивичне активности површине акрилата модификованих ундецилеинском киселином и комбинацијом ундецилеинске киселине и фарнезола
- Фарнезол у комбинацији са ундецилеинском киселином испољава синергистички ефекат што омогућава примену ових супстанци у акрилату у концентрацијама које нису токсичне, а задржавају своју ефикасност.
- Механизам дејства ових супстанци у чистом облику (значи без додавања сурфактаната како би се раствориле) на пораст и изглед колонија врсте *C. albicans* је први пут приказан у овој студији. Показано је да ове супстанце поред антигљивичног дејства, спречавају и

морфогенетску транзицију из једноћелијске у вишећелијску форму раста што је врло значајно у спречавању настанка биофилма на протезама.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Додатак комбинације антигљивичних супстанци: ундецилеинске киселине и фарнезола при концентрацији мањој од 6% не ремети биолошки квалитет хладнополимеризујућег акрилата а испољава антигљивичну активност на сесилне и планктонске ћелије гљива и то 12 дана након припреме материјала због чега би се могла размотрити његова употреба у терапији протезног стоматитиса изазваног врстом *C. albicans*. Антигљивичне супстанце су присутне на површини модификованог акрилата и осим тога повећавају хидрофиљност површине што би смањило адхеренцију гљива и последично формирање биофилма на протези. Будући да литерарни подаци наводе да фарнезол у комбинацији са антигљивичним лековима синергистички делује на резистентне сојеве гљива рода *Candida*, и у овој студији је показано да се у комбинацији са ундецилеинском киселином постиже исти ефекат, што уједно и омогућује коришћење ових супстанци у нижој концентрацији.

2.7. Начин презентирања резултата научној јавности

Резултати ове студије су једним делом публиковани у часопису индексираном на SCI листи (категорија M21), саопштени на међународном скупу и штампани у изводу-категорија (M34)

1. **Petrović M**, Bonvin D, Hofmann H, Mionić Ebersold M. Fungicidal PMMA-Undecylenic Acid Composites. Int J Mol Sci. 2018;19(1):184 **M21**
2. **Petrović M**, Bonvin D, Hofmann H, Mionić Ebersold M. Fungicidal PMMA-undecylenic acid composites. 23rd SSB+RM Annual Meeting, St. Gallen, Switzerland, May 2017 (M34)
3. **Petrović M**, Momčilović, S, Zivkovic, R, Arsic-Arsenijevic V, Otasevic S, Hofmann H, Mionić Ebersold M. Cold-polymerized acrylic resin containing farnesol as *Candida* biofilm repellent. 29th ECCMID, the European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, Netherlands, April 2019 (M34)

ЗАКЉУЧАК

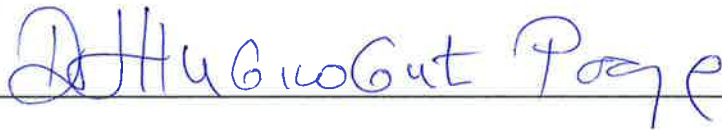
Комисија за оцену и одбрану завршене докторске дисертације кандидаткиње Милице Ишљамовић под називом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању колонизације протеза гљивама рода *Candida*“, сматра да је истраживање у оквиру ове тезе засновано на актуелним сазнањима и да је адекватно реализовано према прецизно постављеној методологији.

Комисија сматра да докторска дисертација урађена под менторством проф. др Јелене Тодић, представља оригиналну научни допринос од научног и практичног значаја у превенцији и/или терапији протезног стоматиса гљивичне етиологије.

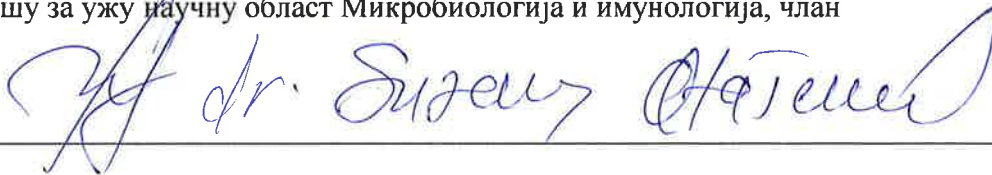
Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Испитивање ефикасности акрилата модификованог антигљивичним супстанцама у спречавању колонизације протеза гљивама рода *Candida*“ кандидаткиње Милице Ишљамовић, буде позитивно оцељена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

1. Проф. др Раде Живковић, ванредни професор Стоматолошког факултета Универзитета у Београду за ужу научну област Клиничке стоматолошке науке, председник



2. Проф. др Сузана Оташевић, редовни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, члан



3. Доц. др Марко Милосављевић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Стоматолошка протетика, члан