

Образац 2.

ПРИЈАВА
ТЕМЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

1. Име (име родитеља) и презиме Mladen Miloje Vuković
2. Студијски програм Bazična i klinička istraživanja u stomatologiji
3. Школска година уписа на студијски програм 2017
4. Број индекса 4001/2017
5. Претходно образовање кандидата (основне и мастер студије): Stomatološki fakultet u Beogradu, FON - zdravstveni menadžment
6. Радни наслов теме докторске дисертације Analiza uticaja acetilsalicilne kiseline na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina in vitro
7. Научне области које обухвата тема докторске дисертације Stomatologija, Medicina, Humana genetika
8. Контакти (телефон, мобилни телефон, e-mail): 0638921300, docvukovic@yahoo.com

Прилози:

- Образложење теме (научна област из које је тема, предмет научног истраживања, основне хипотезе, циљ истраживања и очекиване резултате, методе истраживања и списак стручне литературе која ће се користити)
- Биографија кандидата
- Библиографија кандидата
- Изјава да предложеној тему кандидат није пријављивао на другој високошколској установи у земљи или иностранству
- Мишљење одговарајућих етичких комитета о етичким аспектима истраживања, уколико је предвиђено посебним прописима.

Подносилац пријаве

Dr. Mladen Vuković

IZJAVA

Ja, Dr. Mladen Vuković, rođen 08.06.1969. godine u Beranama, Republika Crna Gora, stalno nastanjen u Beogradu, Ranka Tajsića 12, izjavljujem da predlog teme za izradu doktorske disertacije pod nazivom: "Analiza uticaja acetilsalicilne kiseline na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina invitro", nisam prijavljivao na drugoj visokoškolskoj ustanovi u Republici Srbiji niti u inostranstvu, osim na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu.

U Beogradu, 12.11.2019.

Podnosilac Izjave:



Dr. Mladen Vuković



Univerzitet u Beogradu
STOMATOLOŠKI FAKULTET
Beograd, Ulica dr Subotića br. 8, tel: 2685-288
e-mail: stomfak@rcub.bg.ac.rs web:
www.stomf.bg.ac.rs



ETIČKI ODBOR

BR. 36/8

19-06-2019

Na molbu dr Mladena Vukovića, Etički odbor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu daje

SAGLASNOST

dr Mladenu Vukoviću za sprovođenje istraživanja u okviru doktorske disertacije pod nazivom:

„Analiza uticaja acetilsalicilne kiseline na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina *in vitro*“

i u druge svrhe se ne može koristiti.

Beograd, 18.06.2019.

PREDSEDNIK ETIČKOG ODBORA




/Prof. dr Nataša Nikolić Jakoba/



Mladen Vukovic, DMD

Dr. Mladen Vukovic je rođen 08.06.1969. godine u Beranama, Crna Gora. Osnovnu i srednju školu (Gimnazija) je završio u Podgorici. Vojni rok (SRO) je služio u Zadru. Upisao je Stomatološki fakultet u Zagrebu (prve tri godine) 1988., diplomirao na Stomatološkom fakultetu u Beogradu 1996. godine sa prosečnom ocenom 8,76 i ocenom 10 na diplomskom ispitu: "Oralno – hirurske intervencije u pacijenata rizika".

Dr. Vukovic je lekarski staz i državni ispit položio u Podgorici, 23. Septembra, 1997. Radio je u zemlji i inostranstvu. Tokom 2012. godine dobio je autorizaciju diplome od ENIC/NARIC Centra u Zagrebu, Republika Hrvatska. Završio je specijalističke akademske studije drugog stepena iz Zdravstvenog Menadžmenta na Fakultetu Organizacionih Nauka – FON, u Beogradu, 2013. godine, sa prosečnom ocenom 9,33 i odbranio Master rad na temi: "Strategijski i operativni menadžment u zdravstvu". Objavio je više radova u zemlji i inostranstvu. Posедуje licencu Stomatoloske komore Srbije i Stomatoloske komore Crne Gore. Trenutno je na doktorskim studijama na Stomatološkom fakultetu u Beogradu, sa fokusom na istraživanju matičnih ćelija.

Etičkom komitetu Stomatološkog fakulteta u Beogradu

MOLBA

Molim Etički komitet Stomatološkog fakulteta u Beogradu da mi odobri izradu doktorske disertacije pod nazivom:

**„ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA
DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE
ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA
STVARANJE DENTINA *IN VITRO*“**

Kandidat: Dr. Mladen Vuković

Mentor: Prof. Jelena Milašin, redovni profesor Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu

U prilogu Vam dostavljam sledeće:

- obrazloženje teme
- Curriculum Vitae

S poštovanjem,

U Beogradu , 05.05.2019.

Dr. Mladen Vuković

NASLOV PREDLOŽENE DISERTACIJE:

„ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA STVARANJE DENTINA *IN VITRO*“

Predmet istraživanja

Matične ćelije (MĆ) karakteriše njihov kapacitet samo-obnavljanja i sposobnost da se diferenciraju u bilo koji tip zrelih ćelija. Embrionalne matične ćelije mogu se diferencirati u ćelije tri rodne linije iz kojih mogu nastati sve vrste tkiva dok se matične ćelije odraslog organizma mogu jedino diferencirati u tipove ćelija prisutne u datom tkivu domaćina i služe njegovom obnavljanju. One moraju biti u mogućnosti da se obnavljaju i održavaju balans između samo-obnavljanja i diferencijacije te očuvanja tkivne homeostaze (1).

Pristupačnost zuba izgubljenih prirodnim ili hirurškim putem pruža višestruke mogućnosti tokom života za izolaciju različitih populacija zubnih matičnih ćelija. Bolesti zuba su vrlo rasprostranjene, utiču na kvalitet života ljudi od najranije dobi do starosti i predstavljaju ozbiljan javno-zdravstveni problem. MĆ izolovane iz zuba, pored korišćenja za obnovu i regeneraciju zuba i drugih intraoralnih tkiva, mogu se koristiti i za lečenje sistemskih oboljenja čoveka.

Danas se u istraživanjima koriste embrionalne matične ćelije, adultne matične ćelije i u skorije vreme i indukovane pluripotentne matične ćelije (iPSc). Dok je upotreba embrionalnih matičnih ćelija ograničena etičkim pitanjima, adultne matične ćelije predstavljaju povoljniji ćelijski izvor koji se koristi u tkivnom inženjeringu. Postnatalne matične ćelije su izolovane iz više različitih tkiva kao što su mozak, koža, folikul dlake, skeletni mišići, koštana srž, zubno tkivo. Iz zubne pulpe je do danas izolovano više tipova matičnih ćelija koje su označene kao matične ćelije zubne pulpe (engl. Dental Pulp Stem Cells, DPSC), matične ćelije iz eksfoliranih mlečnih zuba (engl. Stem Cells From Human Exfoliated Decidual Teeth, SHED), nezrele matične ćelije zubne pulpe mlečnih zuba (engl. Immature Dental Pulp Stem Cells, IDPC), matične ćelije

periodontalnog ligamenta (PDLSC), matične ćelije apikalne papile (SCAP) i progenitorske ćelije zubnog folikula (DFPC) (1).

Matične ćelije zubne pulpe su ektomezenhimalnog porekla i lokalizovane su uglavnom u perivaskularnoj niši. One se lako i efikasno izoluju, visoko su proliferativne, klonogene, multipotentne, ispoljavaju visok stepen plasticiteta i slične su mezenhimalnim matičnim ćelijama koštane srži (BMSC) (2-4). U njima je pokazana visoka ekspresija gena alkalne fosfataze, proteina 1 matriksa dentina, i dentin-sijalofosfoproteina kao i gena koji kodiraju za sintezu komponenti ekstracelularnog matriksa, molekula ćelijske adhezije, faktora rasta i transkripcionih faktora (5,6). U *in vitro* uslovima ove ćelije mogu da se diferenciraju, s određenim međusobnim razlikama, u pravcu odontoblasta, hondrocita, osteoblasta, adipocita, neurona/glije, glatkih i skeletnih mišićnih ćelija, endotelnih ćelija i melanocita, sa potencijalom kliničke primene u regenerativnoj medicini (7,8). Takođe, DPSC ispoljavaju anti-inflamatorno i imuno-modulatorno dejstvo jer imaju sposobnost inhibicije proliferacije T limfocita kao i antioksidativni efekat (9).

Kapacitet ćelija zubne pulpe da reaguju na oštećenja uzrokovana patološkim uslovima kao što su karijesne lezije i trauma kakva je preparacija kaviteta, dobro je poznat. Zubna pulpa poseduje regenerativni potencijal što se manifestuje formiranjem reparativnog, tercijarnog dentina. Naime, nakon direktnog zatvaranja pulpe materijalima kao što su mineralni trioksidni agregat (MTA) i kalcijum hidroksid dolazi do inicijalne inflamatorne reakcije praćene stvaranjem tercijarnog dentina. Tokom stvaranja reparativnog dentina, originalni odontoblasti na mestu oštećenja su uništeni i zamenjuju se novim diferenciranim ćelijama poreklom od matičnih ćelija koje na mestu oštećenja naknadno proliferišu i diferenciraju se u ćelije nalik odontoblastima. Gronthos i sar. (2000) prvi su identifikovali matične ćelije iz odrasle ljudske zubne pulpe. Ovu populaciju DPSC-a iz stalnih trećih molara karakteriše njihova velika proliferativnost i sposobnost formiranja kolonija (10). Transplantacija *in vivo* u imunokompromitovane miševe pokazala je sposobnost DPSC-a da generišu funkcionalno zubno tkivo u obliku kompleksa poput dentina / pulpe (10). Međutim, uloga progenitorskih ćelija uključenih u reparativnu dentinogenezu i dalje nije do kraja razjašnjena. Postoji nekoliko potencijalnih populacija pulpnih ćelija iz kojih mogu nastati odontoblasti uključeni u reparativnu dentinogenezu. Naime, Hohl-ov sloj bogat ćelijama, pored odontoblasta, sadrži nediferencirane mezenhimalne ćelije koje mogu biti jedan od izvora progenitora odontoblastnih ćelija. Druge ćelije pulpe kao što su perivaskularne ćelije (periciti) i

fibroblasti takođe pokazuju osobine slične MĆ i mogu biti regrutovane ka regiji tkivnog oštećenja gde doprinose formiranju novih odontoblastnih ćelija (11).

Kao što postoje izvesne nejasnoće oko izvora ovih progenitorskih ćelija tako ni signalni putevi uključeni u njihovo regrutovanje i diferencijaciju nisu potpuno rasvetljeni. Signalizacija uključena u reparativnu dentinogenezu je složena, sa različitim faktorima koji mogu uticati na angažovanje i diferencijaciju progenitorskih ćelija. Angažovanje progenitorskih ćelija, da bi se formirala nova generacija ćelija sličnih odontoblastima, dolazi nakon jakog stimulusa kao što je teško karijesno oštećenje koje uzrokuje smrt prvobitnih odontoblasta. Pokazano je da regrutovanje i diferencijacija ćelija progenitora uključuje delovanje koštanih morfogenetskih proteina (bone morphogenetic proteins- BMPs) oslobođenih nakon odontoblastne apoptoze (12). Na signalne puteve za reparaciju zuba bitan uticaj ima i infiltracija inflamatornih ćelija (dendritske ćelije, T-limfociti, makrofagi, neutrofili i B-limfociti) na mesto oštećenja tkiva kao odgovor na invaziju mikroorganizama (12). Ove zapaljenske i imunske ćelije će osloboditi citokine i faktore rasta koji će dalje usložniti ćelijske signalne mehanizme. Odontoblasti stvaraju nekoliko proteinskih molekula, kao što su osteokalcin (OCN), protein dentinskog matriksa 1 (DMP-1) i dentinski sialofosfoprotein (DSPP), koji se smatraju biološkim markerima diferencijacije matičnih ćelija u odontoblaste (13). Takođe, aktivnost alkalne fosfataze (ALP) se smatra ranim markerom diferencijacije matičnih ćelija u odontoblaste i ima značajnu ulogu u formiranju dentina (13).

Važno je napomenuti da različita jedinjenja u upotrebi u stomatologiji, kao što su natrijum hipohlorit, mineralni trioksidni agregat (MTA) i kalcijum hidroksid dovode do oslobađanja bioaktivnih molekula iz dentina (dentin sialoprotein, dentin fosfoprotein, protein-1 dentinskog matriksa i dr.). Ovi molekuli u različitim koncentracijama indukuju i različite ćelijske efekte uključujući diferencijaciju, angiogenezu i apoptozu (12).

Acetilsalicilna kiselina (ASA) je veoma široko primenjivan lek iz grupe nesteroidnih antiinflamatornih lekova (NSAIL) koji ima analgetički, antipiretički, antiinflamatorni i antiagregacioni efekat. Ovi efekti su posledica inhibicije enzima ciklooksigenaze (COX) i posledičnog sniženja nivoa prostaglandina i tromboksana. Najznačajnije indikacije za primenu ASA danas su prevencija i lečenje infarkta miokarda kao i profilaksa kardiovaskularnih obolenja kod pacijenata sa dijabetes melitusom i visokim kardiovaskularnim rizikom. Od značaja je da je

doza ASA koja se primenjuje u svrhu lečenja i prevencije kardiovaskularne bolesti značajno niža od doza koje se primenjuju za ublažavanje bola ili snižavanje povišene temperature, što smanjuje rizik od nastanka neželjenih efekata, kao što je krvarenje u digestivnom traktu. Međutim, postaje sve izvesnije da se terapijsko polje dejstva ASA može proširiti zahvaljujući tome što ASA utiče na aktivnost i drugih enzima uključenih u regulaciju ćelijskog metabolizma i proliferaciju, kao što su adenzin monofosfat-aktivirana protein kinaza (AMPK) i mitogenom-aktivirana protein kinaza (MAPK). Naime, pokazano je da AMPK ima ključnu ulogu u regulaciji ćelijskog metabolizma, i da je funkcija ovog enzima od ključnog značaja u patogenezi stanja koja prate poremećaji energetskega balansa, kao što su inflamatorni procesi (14). S druge strane, MAPK signalni putevi su uključeni u regulaciju ćelijskog ciklusa i proliferacije ćelija, između ostalih i osteocita (15), što ga čini važnim signalnim molekulom uključenim u homeostazu mineralizovanih tkiva kao što su kost ili zubi. Značajan je podatak da epidemiološka ispitivanja pokazuju da redovna primena ASA može povoljno da utiče na gustinu kosti muškaraca, kao i žena u post-menopauzi (16). Takođe, nedavna istraživanja na animalnom modelu, pokazuju da ASA, utičući na osteogenu diferencijaciju mezenhimalnih ćelija, povoljno utiče na povećanje zarastanja koštanih defekata kalvarije (17). Od značaja je i da nedavna studija Abd Rahmana i saradnika pokazuje da mezenhimalne matične ćelije iz periodontalnog ligamenta ljudi menjaju ekspresiju gena za različite faktore rasta, kao i da povećavaju osteogenu diferencijaciju matičnih ćelija periodontalnog ligamenta, čime se sugerise mogućnost njene primene u regenerativnoj stomatologiji (18).

Iako je pokazano da ASA povećava osteogenu diferencijaciju SHED (19) i povećava osteogenu diferencijaciju DPSC (20), podataka o uticaju ASA na odontoblastnu diferencijaciju DPSC i o mehanizmima koji su u to uključeni, za sada nema. Imajući u vidu da je studija Liu i sar (2015), ispitujući potencijal različitih koncentracija ASA (10-200 µg/ml) u osteogenoj stimulaciji stem ćelija poreklom iz mlečnih zuba (SHED), pokazala da samo niske koncentracije ASA (10 i 50 µg/ml) utiču značajno na osteogenu diferencijaciju SHED, i dizajn naše studije podrazumeva ispitivanje uticaja niskih koncentracija ASA na odontogenu stimulaciju stem ćelija poreklom iz zubne pulpe stalnih zuba.

Radna hipoteza:

Predmet ovog istraživanja je ispitivanje uticaja niskih koncentracija (10 i 50 µg/ml) ASA na diferencijaciju matičnih ćelija izolovanih iz perivaskularne niše humane pulpe u odontoblaste kao i mehanizama uključenih u ovaj efekat ASA. Polazna hipoteza je da niske koncentracije ASA stimulišu diferencijaciju DPSC u funkcionalno sposobne odontoblaste, i ekspresiju gena-odgovornih za stvaranje dentina, mehanizmima koji uključuju aktivaciju signalnih puteva AMPK i MAPK.

Ciljevi:

1. Izolacija i kultivacija ćelija iz perivaskularne niše zubne pulpe trećih molara odraslih ljudi.
2. Utvrđivanje prisustva matičnih ćelija preko markera matičnosti, korišćenjem protočne citometrije i genske ekspresije
3. Određivanje klonogenog, proliferativnog i migratornog potencijala izolovanih ćelija.
4. Ispitivanje uticaja niskih koncentracija ASA (10 i 50 µg/ml) u uslovima *in vitro* na diferencijaciju ovako izolovanih matičnih ćelija u pravcu odontoblasta.
5. Ispitivanje ekspresije gena markera odontoblastne diferencijacije, odgovornih za stvaranje dentina: dentinskog sialofosfoproteina (DSPP), proteina dentinskog matriksa 1 (DMP-1), alkalne fosfataze (ALP) i osteokalcina (OCN).
6. Ispitati ulogu AMPK i MAPK signalnih puteva u ASA-stimulisanoj diferencijaciji DPSC u odontoblaste

Materijal i metode

Istraživanje bi bilo sprovedeno na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u Laboratoriji za bazična istraživanja u saradnji sa Klinikom za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Za *in vitro* studiju neophodno bi bilo izolovati matične ćelije od ekstrahovanih trećih molara pet pacijenata, sistemski zdravih, mlađe životne dobi (18-25 godina). U ispitivanju bi se koristile samo ćelije zubne pulpe zuba ekstrahovanih iz razloga ortodontske ili preprotetske terapije.

Zubi će biti presečeni na gleđno - dentinskoj granici, a zatim će se tkivo pulpe pažljivo ukloniti iz komore i zasejati “explant” metodom. Medijum u kulturama će se menjati tri puta sedmično do postizanja subkonfluentnosti od 80% a zatim će se raditi pasažiranje određenog broja ćelija (500 000 ćelija). Ćelije zubne pulpe će se zasejati u standardnom medijumu uz dodatak ASA u koncentracijama od 10 i 50 $\mu\text{g/ml}$ u trajanju od 72h. Jedan sat pre primene ASA ćelije će biti inkubirane sa 1 μM dorsomorphin dihydrochloride (inhibitor AMPK) ili 50 μM SB-203580 (inhibitor p38MAPK) ili i u istovremenom prisustvu oba inhibitora.

U određivanju klonogenog potencijala izolovanih ćelija, koristiće se test formiranja kolonija (Colony Forming Unit), koji se zasniva na zasejavanju istog broja ćelija (po 200) i praćenja proliferacije i formiranja kolonija nakon 7,10 i 14 dana, kada će se bojenjem sa 0,05% crystal violet, jasno uočavati kolonije i njihov broj na invertnom mikroskopu. Broj kolonija analiziraće se u programu Image J, a dobijeni rezultati koristiti za statističku analizu. U cilju određivanja proliferativnog potencijala, radiće se test ćelijske proliferacije (Cell Proliferation Assay) koji podrazumeva zasejavanje istog broja ćelija (po 10 000) i brojanje ćelija nakon 3. 5. i 7. dana nakon zasejavanja. Migratorni potencijal ćelija će se određivati testom zarastanja rana (Scratch Wound Healing Assay). Nakon zasejavanja ćelija (po 10 000) i uspostavljanja 80% konfluentnosti, sterilnom gumom širine 1mm ćelije se razdvajaju, a zatim prate tokom 72h. Smanjivanje razdaljine između razdvojenih ćelija mikroskopski se meri pomoću programa ScopeImage 9.0, a dobijeni rezultati će služiti za određivanje brzine ćelijske migracije i kasniju statističku analizu.

U cilju utvrđivanja matičnosti kod ćelija perivaskularne niše zubne pulpe vršiće se testiranje kako pozitivne, tako i negativne ekspresije površinskih markera metodom protočne citometrije, a za ova testiranja koristiće se ćelije pete pasaže. Za identifikaciju matičnih ćelija vršiće se imunofenotipizacija preko dokazivanja pozitivne ekspresije markera CD133, CD44 i CD24, protočnom citometrijom i faktora transkripcije Oct-4, Sox 2, Nanog, CD133, CD 45, CD90 metodom real-time PCR-a. Takođe, vršiće se i testiranje negativne ekspresije (odsustva) hematopoetskog markera CD34 (prisutan u populaciji primitivnih hematopoetskih ćelija). Izolovana RNK iz ćelija pete pasaže će se takođe koristiti za ispitivanje ekspresije gena odgovornih za stvaranje dentina: ALP, OCN, DSPP i DMP-1. Za dokazivanje ekspresije DSPP

gena koristiće se Western immunoblots i reverse-transcription polymerase chain-reaction (RT-PCR)

Statistička analiza

Statističkom analizom biće obuhvaćeni svi parametri dobijeni laboratorijskim ispitivanjima. Baza podataka biće formirana u statističkom paketu SPSS 18.0, gde će se vršiti dalja analiza prikupljenih podataka.

Literatura:

1. Demarco F, Conde M, B Cavalcanti B, et al. Dental Pulp Tissue Engineering. *Braz Dent J.* 2011;22(1):3–13.
2. Kerkis I, Kerkis A, Dozortsev D, et al. Isolation and characterization of a population of immature dental pulp stem cells expressing OCT-4 and other embryonic stem cell markers. *Cells Tissues Organs* 2006;184:105-16.
3. d'Aquino R, Papaccio G, Laino G, Graziano A. Dental pulp stemcells: a promising tool for bone regeneration. *Stem Cell Rev* 2008;4:21-26.
4. Perry BC, Zhou D, Wu X, et al. Collection, cryopreservation, and characterization of human dental pulp-derived mesenchymal stem cells for banking and clinical use. *Tissue Eng Part C Methods* 2008;14:149-156.
5. Shi S, Gronthos S. Perivascular niche of postnatal mesenchymal stem cells in human bone marrow and dental pulp. *J Bone Miner Res* 2003;18:696-704.
6. d'Aquino R, Graziano A, Sampaolesi M, et al. Human postnatal dental pulp cells co-differentiate into osteoblasts and endotheliocytes: a pivotal synergy leading to adult bone tissueformation. *Cell Death Differ* 2007;14:1162-1171.
7. Das S, Bellare JR. Dental Pulp Stem Cells in Customized 3D Nanofibrous Scaffolds for Regeneration of Peripheral Nervous System. *Methods Mol Biol.* 2018; doi: 10.1007/7651_2018_194. [Epub ahead of print]
8. Yamada Y, Nakamura-Yamada S, Kusano K, Baba S. Clinical Potential and Current Progress of Dental Pulp Stem Cells for Various Systemic Diseases in Regenerative Medicine: A Concise Review. *Int J Mol Sci.* 2019;20(5).
9. Ullah I, Choe YH, Khan M, et al. Dental pulp-derived stem cells can counterbalance peripheral nerve injury-induced oxidative stress and supraspinal neuro-inflammation in rat brain. *Sci Rep.* 2018; 8:15795.
10. Gronthos S, Mankani M, Brahimi J, Gehron Robey P, Shi S. Postnatal human dental pulp stem cells (DPSCs) *in vitro* and *in vivo*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(25):13625–13630.

11. Vidovic-Zdrilic I, Vining KH, Vijaykumar A, et al. FGF2 Enhances Odontoblast Differentiation by α SMA⁺ Progenitors In Vivo. *J Dent Res*. 2018;97(10):1170-1177.
12. Goldberg M, Farges JC, Lacerda-Pinheiro S, Six N, Jegat N, Decup F, Septier D, Carrouel F, Durand S, Chaussain-Miller C, Denbesten P, Veis A, Poliard A. Inflammatory and immunological aspects of dental pulp repair. *Pharmacol Res* 2008;58(2):137-47.
13. Song Z, Chen L, Guo J, et al. The Role of Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C, Member 1 in the Odontoblast-like Differentiation of Human Dental Pulp Cells. *J Endod*. 2017;43(2):315-320.
14. Hardie DG, Schaffer BE, Brunet A. AMPK: An Energy-Sensing Pathway with Inputs and Outputs. *Trends Cell Biol*. 2016;26(3):190-201.
15. Broome DT, Datta NS. Mitogen-activated protein kinase phosphatase-1: function and regulation in bone and related tissues. *Connect Tissue Res*. 2016;57(3):175-89.
16. Carbone LD, Tylavsky FA, Cauley JA, et al. Association between bone mineral density and the use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and aspirin: impact of cyclooxygenase selectivity. *J Bone Miner Res*. 2003;18(10):1795-802.
17. Cao Y, Xiong J, Mei S, et al. Aspirin promotes bone marrow mesenchymal stem cell-based calvarial bone regeneration in miniswine. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6:210.
18. Abd Rahman F, Mohd Ali J, Abdullah M, et al. Aspirin Enhances Osteogenic Potential of Periodontal Ligament Stem Cells (PDLSCs) and Modulates the Expression Profile of Growth Factor-Associated Genes in PDLSCs. *J Periodontol*. 2016;87(7):837-47.
19. Liu Y, Chen C, Liu S, et al. Acetylsalicylic acid treatment improves differentiation and immunomodulation of SHED. *J Dent Res*. 2015;94(1):209-18.
20. Yuan M, Zhan Y, Hu W, et al. Aspirin promotes osteogenic differentiation of human dental pulp stem cells. *Int J Mol Med*. 2018;42(4):1967-1976.

Stomatološki fakultet u Beogradu

KLINICI ZA ORALNU HIRURGIJU

Dr Subotića 4, Beograd

Telefon: (011) 2685-824

MOLBA

Molim vas da mi odobrite prikupljanje uzoraka (5 ekstrahovanih trećih molara muških pacijenata u dobi 18-25 godina), radi dalje laboratorijske obrade i izolovanja matičnih ćelija zubne pulpe. Uzorak mi je potreban u postupku istraživanja predviđenih temom doktorske disertacije pod naslovom: „ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA STVARANJE DENTINA *IN VITRO*“

Podnosilac molbe

Dr Mladen Vuković

SAGLASNOST PACIJENTA

Potvrđujem da sam saglasan da se moj zub, izvađen zbog terapijskih indikacija, koristi u istraživačke svrhe uz obezbeđenje moje anonimnosti.

PACIJENT

LEKAR ISTRAŽIVAČ

Datum:

Curriculum Vitae

Lični podaci:

Ime i prezime: Mladen Vuković

Adresa: Ranka Tajsica 12, 11000 Beograd, Srbija

Kontakt telefon: 063/8921300

e-mail: docvukovic@yahoo.com / docvukovic@gmail.com

Datum rođenja: 08.06.1969.

Obrazovanje: Doktor stomatologije

- 2017 –
Doktorske studije na Stomatološkom fakultetu u Beogradu, smer: Bazična istraživanja u stomatologiji
- 2009 – 2013
Master (specijalističke) studije iz Zdravstvenog Menadžmenta, Fakultet Organizacionh Nauka (FON), Univerzitet u Beogradu, prosečna ocena 9,33
- 1989 – 1996
Stomatološki fakultet u Zagrebu, Stomatološki fakultet u Beogradu, prosečna ocena 8,76 i ocena 10 na Diplomskom ispitu „Oralno-hirurške intervencije u pacijenata rizika“, Mentor Prof. dr Zorka Milošević
- 1983 – 1987
Gimnazija „Slobodan Škerović“, Podgorica
- 1975 - 1983
Osnovna škola „Milorad Musa Burzan“, Podgorica

Radno iskustvo:

- 2019 –
DZ Dorćol (MediGroup) – Konsultant

- 2013 – 2019
Stomatološka ordinacija "Dr. Vuković", Podgorica
- 2006 – 2013
Stomatološka ordinacija "ASTRA", Beograd
- 2000 – 2006
St. Mary's Hospital, London, UK (gostujući lekar)
- 1998 – 2000
Stomatološka ordinacija "Veradent", Bar
- 1996 – 1997
"Dom zdravlja - Podgorica", lekarski staž

Poznavanje stranih jezika:

- Engleski (Napredni)
- Italijanski (Početni)
- Norveški (Početni)

Članstva u institucijama:

- Stomatološka Komora Srbije
- Lekarska komora Crne Gore
- Evropska Asocijacija Zdravstvenih Menadzera (EHMA)

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU STOMATOLOŠKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U BEOGRADU

Odlukom Nastavno-naučnog veća Stomatološkog fakulteta, Univerziteta u Beogradu, donetoj na drugoj redovnoj sednici održanoj 29.10.2019. godine, imenovana je komisija u sastavu: Prof. dr Jelena Roganović i Prof. dr Miroslav Andrić sa Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu i Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik u Institutu za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo, Univerziteta u Beogradu, za ocenu predloga teme doktorske disertacije pod naslovom: **“ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA STVARANJE DENTINA IN VITRO”**

Komisija na osnovu priložene i proučene dokumentacije podnosi sledeći

IZVEŠTAJ KOMISIJE

1. Biografski podaci o kandidatu

Dr. Mladen Vuković je upisao Stomatološki fakultet u Zagrebu 1988 na kojem je odslušao prve tri godine studija, da bi potom prešao na Stomatološki fakultet u Beogradu 1991. godine, gde je i diplomirao 16.05.1996. sa prosečnom ocenom 8,76 i odbranio diplomski rad sa ocenom 10, sa temom “Oralno-hirurške intervencije u pacijenata rizika“, pod mentorstvom Prof. Dr Zorke Milošević. Lekarski staž i državni ispit položio je u Podgorici. Radio je u zemlji i inostranstvu u javno-zdravstvenom sistemu i privatnoj praksi. Tokom 2009. upisao je master studije iz zdravstvenog menadžmenta na Fakultetu organizacionih nauka – FON, u Beogradu, koje je završio 2013.

Dr. Mladen Vuković je učestvovao na brojnim kongresima u zemlji i inostranstvu i završio više kurseva i seminara, od kojih su najznačajniji Kurs iz implantologije na Klinici za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu, decembar 2004., i SHOFU Kurs iz minimalno invazivne estetske stomatologije, maj, 2012. godine.

Dr. Mladen Vuković je član nekoliko domaćih i međunarodnih organizacija: Stomatološke komore Srbije, Lekarske komore Crne Gore i EHMA (Evropske Asocijacije Zdravstvenih Menadžera).

Posедуje Licencu Stomatološke komore Srbije i Stomatološke komore Crne Gore. Takođe poseduje Hrvatsku Autorizaciju, izdatu od strane ENIC/NARIC Centra u Zagrebu, 2012. godine. Govori engleski i italijanski jezik (i norveški na osnovnom nivou).

2.Obrazloženje teme

2.1. Naučna oblast – Stomatološke nauke

2.2. Predmet rada

Pristupačnost zuba izgubljenih prirodnim ili hirurškim putem pruža višestruke mogućnosti tokom života za izolaciju različitih populacija matičnih ćelija. Bolesti zuba su vrlo rasprostranjene, utiču na kvalitet života ljudi od najranije dobi do starosti i predstavljaju ozbiljan javno-zdravstveni problem. Matične ćelije izolovane iz zuba, pored korišćenja za obnovu i regeneraciju zuba i drugih intraoralnih tkiva, mogu se potencijalno koristiti i za lečenje sistemskih oboljenja čoveka. Matične ćelije zubne pulpe su ektomezenhimalnog porekla i lokalizovane su uglavnom u perivaskularnoj niši. One se lako i efikasno izoluju, visoko su proliferativne, klonogene, multipotentne, ispoljavaju visok stepen plasticiteta i slične su mezenhimalnim matičnim ćelijama koštane srži. U *in vitro* uslovima ove ćelije mogu da se diferenciraju u pravcu odontoblasta, hondrocita, osteoblasta, adipocita, neurona/glije, glatkih i skeletnih mišićnih ćelija, endotelних ćelija i melanocita.

Predmet predložene doktorske disertacije je analiza uticaja acetilsalicilne kiseline (ASA) na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina *in vitro*. Acetilsalicilna kiselina je veoma široko primenjivan lek iz grupe nesteroidnih antiinflamatornih lekova i ima analgetički, antipiretički, antiinflamatorni i antiagregacioni efekat. Nedavno je pokazano da ASA povećava osteogenu diferencijaciju matičnih ćelija iz eksfoliranih mlečnih zuba (SHED) i osteogenu diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe (DPSC). Međutim, podataka o uticaju ASA na odontoblastnu diferencijaciju DPSC i mogućim mehanizmima koji su u to uključeni, za sada nema. Studija Liu i sar. (2015), u kojoj je ispitivano delovanje različitih koncentracija ASA (10-200µg/ml) na osteogenu stimulaciju matičnih ćelija poreklom iz mlečnih zuba (SHED), pokazala je da samo niske koncentracije ASA (10 i 50µg/ml) utiču značajno na osteogenu diferencijaciju SHED, pa će tako i u ovoj studiji biti ispitan uticaj niskih koncentracija ASA na odontogenu stimulaciju matičnih ćelija poreklom iz zubne pulpe stalnih zuba.

2.3. Radna hipoteza

Predmet ovog istraživanja je ispitivanje uticaja niskih koncentracija (10 i 50 µg/ml) ASA na diferencijaciju matičnih ćelija izolovanih iz perivaskularne niše humane pulpe u odontoblaste kao i mehanizama uključenih u ovaj efekat ASA. Polazna hipoteza je da niske koncentracije ASA stimulišu diferencijaciju DPSC u funkcionalno sposobne odontoblaste, i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina, mehanizmima koji uključuju aktivaciju signalnih puteva AMPK i MAPK.

2.4. Naučni ciljevi istraživanja

Ciljevi ovog istraživanja su sledeći:

1. Izolacija i kultivacija ćelija iz perivaskularne niše zubne pulpe trećih molara odraslih ljudi.
2. Utvrđivanje prisustva matičnih ćelija preko markera matičnosti, korišćenjem protočne citometrije i genske ekspresije.
3. Određivanje klonogenog, proliferativnog i migratornog potencijala izolovanih ćelija.
4. Ispitivanje uticaja niskih koncentracija ASA (10 i 50 µg/ml) u uslovima *in vitro* na diferencijaciju ovako izolovanih matičnih ćelija u pravcu odontoblasta.
5. Ispitivanje ekspresije gena markera odontoblastne diferencijacije, odgovornih za stvaranje dentina: dentinskog sialofosfoproteina (DSPP), proteina dentinskog matriksa 1 (DMP-1), alkalne fosfataze (ALP) i osteokalcina (OCN).
6. Ispitivanje uloge AMPK i MAPK signalnih puteva u ASA-stimulisanoj diferencijaciji DPSC u odontoblaste.

2.5. Materijal i metode istraživanja

Istraživanje bi bilo sprovedeno na Stomatološkom fakultetu Univerziteta u Beogradu, u Laboratoriji za bazična istraživanja u saradnji sa Klinikom za oralnu hirurgiju Stomatološkog fakulteta u Beogradu. Za *in vitro* studiju neophodno bi bilo izolovati matične ćelije od ekstrahovanih trećih molara pet pacijenata, sistemski zdravih, mlađe životne dobi (18-25 godina). U ispitivanju bi se koristile samo ćelije zubne pulpe zuba ekstrahovanih iz razloga ortodontske ili preprotetske hirurgije.

Zubi će biti presečeni na gleđno - dentinskoj granici, a zatim će se tkivo pulpe pažljivo ukloniti iz komore i zasejati “explant” metodom. Medijum u kulturama će se menjati tri puta sedmično do postizanja subkonfluentnosti od 80% a zatim će se raditi pasažiranje određenog broja ćelija (500 000 ćelija). Ćelije zubne pulpe će se zasejati u standardnom medijumu uz dodatak ASA u koncentracijama od 10 i 50 µg/ml u trajanju od 72h. Za ispitivanje uloge AMPK i MAPK signalnih puteva, jedan sat pre primene ASA ćelije će biti inkubirane sa inhibitorima ovih signalizacionih kaskada: 1µM dorsomorfin dihidrohlorida (inhibitor AMPK) ili 50µM SB-203580 (inhibitor p38MAPK) ili sa oba inhibitora istovremeno.

U sklopu karakterizacije matičnosti izolovanih ćelija zubne pulpe, primeniće se nekoliko odgovarajućih testova. U određivanje klonogenog potencijala izolovanih ćelija, koristiće se test formiranja kolonija (Colony Forming Unit), koji se zasniva na zasejavanju 200 ćelija i praćenju proliferacije i formiranja kolonija nakon 7, 10 i 14 dana, kada će se bojenjem sa 0,05% crystal violet, jasno uočiti kolonije i njihov broj na invertnom mikroskopu. Broj kolonija analiziraće se u programu Image J, a dobijeni rezultati koristiti za statističku analizu. U cilju određivanja proliferativnog potencijala, radiće se test ćelijske proliferacije (Cell Proliferation Assay) koji podrazumeva zasejavanje 10 000 ćelija i brojanje ćelija 3. 5. i 7. dana nakon zasejavanja. Migratorni potencijal ćelija će se određivati testom zarastanja rana (Scratch Wound Healing Assay). Nakon zasejavanja ćelija (po 10 000) i uspostavljanja 80% konfluentnosti, sterilnom gumom širine 1mm ćelije se razdvajaju, a zatim prate tokom 72h. Smanjivanje razdaljine između razdvojenih ćelija mikroskopski se meri pomoću programa ScopeImage 9.0, a dobijeni rezultati će služiti za određivanje brzine ćelijske migracije i kasniju statističku analizu.

U cilju utvrđivanja matičnosti kod ćelija perivaskularne niše zubne pulpe vršiće se testiranje kako pozitivne, tako i negativne ekspresije površinskih markera metodom protočne citometrije, a za ova testiranja koristiće se ćelije pete pasaže. Za identifikaciju matičnih ćelija vršiće se imunofenotipizacija preko dokazivanja pozitivne ekspresije markera CD133, CD44 i CD24, protočnom citometrijom i faktora transkripcije Oct-4, Sox 2, Nanog, CD133, CD 45, CD90 metodom real-time PCR-a. Takođe, vršiće se i testiranje negativne ekspresije (odsustva) hematopoetskog markera CD34.

Izolovana RNK iz ćelija pete pasaže će se takođe koristiti za ispitivanje diferencijacije matičnih ćelija u odontoblaste, preko analize ekspresije gena odgovornih za stvaranje dentina: ALP, OCN, DSPP i DMP-1. Nivo ekspresije će biti određivan pre tretmana inhibitorima AMPK i MAPK i nakon tretmana. Ekspresija iRNK gore navedenih markera biće analizira real-time PCR metodom, nakon reverzne transkripcije.

Statistička analiza

Statističkom analizom biće obuhvaćeni svi parametri dobijeni laboratorijskim ispitivanjima. Baza podataka biće formirana u statističkom paketu SPSS 18.0, gde će se vršiti dalja analiza prikupljenih podataka.

2.6. Potencijalni naučni doprinos disertacije

Kapacitet ćelija zubne pulpe da reaguju na oštećenja uzrokovana patološkim stanjima kao što su karijesne lezije i trauma kakva je preparacija kaviteta, dobro je poznat. Zubna pulpa poseduje regenerativni potencijal što se manifestuje formiranjem reparativnog, tercijarnog dentina. Naime, nakon direktnog zatvaranja pulpe materijalima kao što su mineralni trioksidni agregat (MTA) i kalcijum hidroksid dolazi do inicijalne inflamatorne reakcije praćene stvaranjem tercijarnog dentina. Tokom stvaranja reparativnog dentina, originalni odontoblasti na mestu oštećenja su uništeni i zamenjuju se novim diferenciranim ćelijama poreklom od matičnih ćelija koje na mestu oštećenja naknadno proliferišu i diferenciraju se u ćelije nalik odontoblastima. Brojna patološka stanja na sistemskom nivou, kao što je prisustvo kardiovaskularne bolesti i DM utiče na mikrocirkulatorni sistem zubne pulpe i tkivno-strukturne promene, i posledično njen regenerativni potencijal. Eventualni pozitivan uticaj niskih koncentracija ASA na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i produkciju tercijarnog dentina otvara mogućnosti njegove terapijske primene u bolestima zuba.

2.7. Očekivani rezultati

Očekuje se da predloženo istraživanje pruži odgovor na pitanje o eventualnom uticaju niskih koncentracija ASA na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i produkciju reparatornog dentina, kao i ulogu AMPK i MAPK signalnih puteva u ASA stimulisanju diferencijaciji. Rezultati ovog istraživanja doprineće boljem razumevanju uticaja niskih doza ASA na reparatorne mogućnosti zubne pulpe i mehanizme koji su u to uključeni. Takođe, ovo istraživanje će omogućiti sveobuhvatno sagledavanje mogućnosti šire primene niskih doza ASA u regenerativnoj stomatologiji.

3. Zaključak

Predložena tema doktorske disertacije Dr. Mladena Vukovića pod naslovom **“ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA STVARANJE DENTINA *IN VITRO*”** predstavlja aktuelno i originalno istraživanje. Naučni problem je dobro obrazložen, ciljevi i hipoteze jasno definisani, metode

ispitivanja su savremene i adekvatne., te predložena doktorska disertacija može da predstavlja značajan naučni iskorak u oblasti regenerativne stomatologije.

Na osnovu svega iznetog, Komisija za ocenu predloga teme smatra da su ispunjeni uslovi za izradu ove doktorske disertacije. Predlažemo Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da odobri izradu doktorske disertacije Dr. Mladena Vukovića pod naslovom: **“ANALIZA UTICAJA ACETILSALICILNE KISELINE NA DIFERENCIJACIJU MATIČNIH ĆELIJA ZUBNE PULPE U ZRELE ODONTOBLASTE I EKSPRESIJU GENA ODGOVORNIH ZA STVARANJE DENTINA IN VITRO”**.

Za mentora se predlaže prof. dr Jelena Milašin, Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu.

Članovi Komisije:

Prof. Dr Jelena Roganović

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Prof. dr Miroslav Andrić

Stomatološki fakultet, Univerzitet u Beogradu

Dr Gordana Nikčević, naučni savetnik

Institut za molekularnu genetiku i genetičko inženjerstvo

Univerzitet u Beogradu

U Beogradu, 14.11.2019.

Na osnovu člana 53. Statuta Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, Nastavno naučno veće Stomatološkog fakulteta, na III redovnoj sednici u školskoj 2019/20. godini, održanoj 26.11.2019. godine, donelo je sledeću

O D L U K U

Usvaja se pozitivan izveštaj stručne komisije za ocenu predloga teme doktorske disertacije **dr Mladena Vukovića**, pod nazivom **Analiza uticaja acetosalicilne kiseline na diferencijaciju matičnih ćelija zubne pulpe u zrele odontoblaste i ekspresiju gena odgovornih za stvaranje dentina in vitro.**

Utvrđuje se da kandidat može pristupiti radu na doktorskoj disertaciji pod navedenim nazivom, pod uslovom da se sa izveštajem komisije i odlukom ovog Veća saglasi Veće naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu.

Za mentora kandidatu imenuje se prof. dr Jelena Milašin.

Odluku dostaviti:

- Veću naučnih oblasti medicinskih nauka Univerziteta u Beogradu
- Imenovanom/oj,
- Mentoru,
- Veću,
- Odseku za nastavu,
- Pisarnici.

Referent kadrovskog odseka
Violeta Rastović

Dekan
Stomatološkog fakulteta

Prof. dr Aleksa Marković

Стоматолошки факултет
УНИВЕРЗИТЕТА У
БЕОГРАДУ

(Број захтева)

Датум

Веће научних области медицинских наука
(Назив већа научне области коме се захтев упућује)

Београд,
Студентски трг бр.1

ЗАХТЕВ

за давање сагласности на одлуку о прихватању теме докторске дисертације и о
одређивању ментора

Молимо да, сходно члану 48. ст. 5. тач. 4. Статута Универзитета у Београду ("Гласник
Универзитета", број 201. од 28.2.2018. године), дате сагласност на одлуку о теме докторске
дисертације:

**АНАЛИЗА УТИЦАЈА АЦЕТИЛСАЛИЦИЛНЕ КИСЕЛИНЕ НА
ДИФЕРЕНЦИЈАЦИЈУ МАТИЧНИХ ЋЕЛИЈА ЗУБНЕ ПУЛПЕ У ЗРЕЛЕ
ОДОНТОБЛАСТЕ И ЕКСПРЕСИЈУ ГЕНА ОДГОВОРНИХ ЗА СТВАРАЊЕ ДЕНТИНА
IN VITRO**

(пун назив предложене теме докторске дисертације)

НАУЧНА ОБЛАСТ: **СТОМАТОЛОШКЕ НАУКЕ**

ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ:

1. Име, име једног од родитеља и презиме кандидата:

Младен Милоје Вуковић

2. Претходно образовање (назив и седиште факултета, студијски програм):

Стоматолошки факултет Универзитета у Београду

3. Година завршетка претходног нивоа студија **1996**

4. Година уписа на докторске студије: **2017**

5. Назив студијског програма докторских студија:

Базична и клиничка истраживања у стоматологији

Подаци о ментору

Име и презиме ментора: Јелена Милашин

Звање: Редовни професор

Списак радова који квалификују ментора за вођење докторске дисертације:

1. Simonović J, Toljić B, Rašković B, Jovanović V, Lazarević M, Milošević M, Nikolić N, Panajotović R, **Milašin J**. Raman microspectroscopy: toward a better distinction and profiling of different populations of dental stem cells. *Croat Med J*. 2019 Apr 30;60(2):78-86.
2. Lazarevic M, Milosevic M, Trisic D, Toljic B, Simonovic J, Nikolic N, Mikovic N, Jelovac D, Petrovic M, Vukadinovic M, **Milasin J**. Putative cancer stem cells are present in surgical margins of oral squamous cell carcinoma. *J BUON*. 2018 Nov-Dec;23(6):1686-1692.
3. Milosevic M, Lazarevic M, Toljic B, Simonovic J, Trisic D, Nikolic N, Petrovic M, **Milasin J**. Characterization of stem-like cancer cells in basal cell carcinoma and its surgical margins. *Exp Dermatol*. 2018 Oct;27(10):1160-1165.
4. Milosavljević A, DJukić L, Toljić B, **Milašin J**, DŽeletović B, Brković B, Roganović J. Melatonin levels in human diabetic dental pulp tissue and its effects on dental pulp cells under hyperglycaemic conditions. *Int Endod J*. 2018 Oct;51(10):1149-1158.
5. Simonovic J, Toljic B, Nikolic N, Peric M, Vujin J, Panajotovic R, Gajic R, Bekyarova E, Cataldi A, Parpura V, **Milasin J**. Differentiation of stem cells from apical papilla into neural lineage using graphene dispersion and single walled carbon nanotubes. *J Biomed Mater Res A*. 2018 Oct;106(10):2653-2661.

Обавештавамо вас да је

Наставно научно веће

(назив надлежног тела факултета)

на седници одржаној 26.11.2019. размотрило предложену тему и закључило да је тема подобна за израду докторске дисертације јер садржи оригиналну идеју и да је од значаја за развој науке, примену њених резултата, односно развој научне мисли уопште.

ДЕКАН ФАКУЛТЕТА

Проф. др Алекса Марковић

Прилог:

1. Одлука Наставно-научног већа о прихватању теме и одређивању ментора,
2. Извештај комисије о научној заснованости теме докторске дисертације.

Напомена: Факултет доставља Универзитету захтев са прилозима у електронској форми и у једном писаном примерку за архиви Универзитета