

**УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ**  
**МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ:**



**ИЗВЛЕШТАЈ**  
*о оцјени урађене докторске дисертације*

**І ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, на сједници одржаној 14.03.2017. године, донијело је Одлуку број:18/3.241/2017. о именовању Комисије за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације мр сц. Ирене Кузмановић Радман под називом „Утицај олова на дистрибуцију медијатора одонтогенезе у дијабетесом измјењеној пулти зуба пацова”.

Именована је комисија у следећем саставу:

1. Предсједник:  
 Доц.др Александра Ђери  
 Звање: доцент  
 Ужа научна област: Болести зуба  
 Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет
2. Члан:  
 Проф. др Славољуб Живковић  
 Звање: редовни професор  
 Ужа научна област: Болести зуба  
 Институција: Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет, ментор и члан
3. Члан:  
 Проф. др Радослав Гајанин  
 Звање: редовни професор  
 Ужа научна област: Патологија  
 Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет.
4. Члан:  
 Доц. др Наташа Гајић  
 Звање: доцент  
 Ужа научна област: Болести зуба  
 Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, члан
5. Члан:  
 Доц. др Сања Гњато

Звање: доцент

Ужа научна област: Протетика

Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, члан

Након детаљног прегледа урађене докторске дисертације кандидата mr сц. Ирене Кузмановић Радман чланови Комисије подносе Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци слједећи извјештај:

## II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Ирена (Звонимир) Кузмановић Радман.

Рођена 07.08.1978. године у Бањој Луци, Република Српска, Босна и Херцеговина. Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, Студијски програм стоматологија, кандидаткиња је завршила 2005. године са просјечном оцјеном 8,06, те стекла звање доктора стоматологије.

Кандидаткиња је уписала постдипломски студиј на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци 2007. године и успјешно га завршила са просјечном оцјеном 9,80. На Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци у априлу 2012. године успјешно је одбранила магистарски рад под називом: „Микробиолошка и клиничка истраживања дубоких каријесних лезија”, и тиме стекла звање магистра стоматолошких наука из области Болести зуба.

## III УВОДНИ ДИО ОЦЉЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов докторске дисертације mr сц. Ирене Кузмановић Радман је:

„Утицај олова на дистрибуцију медијатора одонтогенезе у дијабетесом измијењеној пулпи зуба пацова ”.

Тема докторске дисертације је прихваћена од стране Наставно-научног вијећа Медицинског факултета, Универзитета у Бањој Луци Одлуком број: 18/3.107/2016 од 10.02.2016. Сенат Универзитета у Бањој Луци Одлуком број: 02/04-3.536-78/16 од 2.03.2016. године дао је сагласност на Извјештај о оцјени услова и подобности теме за израду докторске дисертације на Медицинском факултету у Бањој Луци кандидаткиње mr сц. Ирене Кузмановић Радман под називом „Утицај олова на дистрибуцију медијатора одонтогенезе у дијабетесом измијењеној пулпи зуба пацова ”.

Садржај докторске дисертације је изложен у слједећим поглављима:

- 1) Увод (стр. 1-36),
- 2) Хипотеза (стр. 37),
- 3) Циљ рада (стр. 38),
- 4) Материјал и методе (стр. 39-46),
- 5) Резултати истраживања (стр. 47-73),

- 6) Дискусија (стр. 74-88),
- 7) Закључак (стр. 89-90) и
- 8) Литература (стр. 91-100).

Докторска дисертација је написана латиничним писмом, фонтом *Times New Roman*, величина 12. Дисертација је написана на укупно 101 страница, формата А4. На почетку дисертације налази се 8 страна које нису нумерисане, а односе се на наслов дисертације, резиме (на српском и на енглеском језику), захвалници и на садржај докторске дисертације. Дисертација садржи 18 табеле и 28 слика. Укупан фонд кориштене литературе чини 112 литерарна извора.

**У првој целини** (стр.1-36) истакнут је разлог због којег је ово истраживање предузето. Укратко је представљен предмет истраживања и истакнута је изложеност олову у животној средини којој се данас се сматра главном здравственом темом јер је то један од најштетнијих токсина, укључујући анемију, хипертензију, патологију костију и зуба подразумевајући и каријес тврдих зубних ткива. Чврста ткива зуба се разликују по својим ограниченим способностима да ослобађају акумулисане елементе у системске течности, па зато представљају идеалне структуре за процјену дугорочних ефеката излагања токсичним металима. Такође, истакнуто је да чврста зубна ткива се састоје од неколико различитих минерала који са калцијумом представљају главни макро-минерал. Физиолошки важни минерали као и неки токсични метали се током времена могу акумулирати у калцификованим ткивима (зубу и костима). Чврста ткива зуба због ограничених могућности ослобађања ових акумулисаних елемента. Зато представљају идеална ткива за процјену дугорочних ефеката излагања организма токсичним металима. Један од таквих токсичних тешких метала је олово, које се везује за зуб, али и остаје у динамичном балансу са нормалним саставом зубне супстанце.

**У другој целини** (стр.35) представљена је хипотеза спроведеног истраживања која указује да се олово интензивно одлаже у глеји и дентину зуба пацова. Олово утиче на експресију медијатора одонтогенезе-фибректина, тенасцина и ТГФ- $\beta$ 1 у пулпи. Дијабетес значајно мијења експресију медијатора одонтогенезе-фибректина, тенасцина и ТГФ- $\beta$ 1.

Циљеви истраживања су дати у  **трећој целини** (стр.38). Циљеви истраживања су прецизно постављени како би се испитала концентрација олова у тврдим зубним ткивима и утицај олова на медијаторе одонтогенезе у пулпи зуба експерименталних животиња.

**У четвртој целини** (стр.39-46) представљена је основна методологија истраживања. У овом дијелу детаљно је описан прикупљени узорак као и критеријуми за њихов избор, кориштени материјал и детаљна методологија рада током истраживања.

**Садржaj пете целине** (стр. 47-73). У оквиру овог дијела дисертације приказани су резултати по фазама истраживања. Детаљно су приказани добијени резултати имунохистохемијске анализе и EDS анализе зуба пацова који су добијали олово у периоду од 14 и 30 дана.

**Шеста целина** у овој докторској дисертацији (стр. 74-88) представљена је дискусијом добијених резултата истраживања и њиховом компарацијом са већ постојећим сличним истраживањима у овој научној области. Представљени су и образложени доприноси овог рада, постојећим сазнањима о утицају олова на одонтогенезу.

**У седмој целини** (стр. 89-90) ове дисертације, кандидаткиња је на јасан и систематичан начин представила синтезу сазнања и научних чињеница изнесених у оквиру дисертације, добијених на основу резултата истраживања и тестирања

хипотезе.

**Осма цјелина** (стр. 91-100) ове дисертације представља списак кориштене литературе у оквиру спроведеног истраживања, а у оквиру израде ове дисертације.

#### IV УВОД И ПРЕГЛЕД ЛИТЕРАТУРЕ

##### **IV 1. Разлог због којег је истраживање предузето, проблем, предмет, циљеви и хипотеза истраживања**

У оквиру увода и прегледа литературе докторске дисертације јасно су и логичким редослиједом описаны основни појмови о *проблему* који се истражује, почев од појма општег стање пацијената у подручјима загадјеним оловом и његове дистрибуције у глеђи и дентину зуба што представља *предмет* овог истраживања. Детаљно су описане велике промјене на зубима код одраслих, а посебно код дјеце која су била изложена интоксикацији оловом. У једној од многих студија утврђено је, употребом пламене атомске апсорпционе спектрофотометрије да се олово највише акумулирало у млијечним зубима и то више код болесне него код здраве дјеце и да су токсични тешки метали, који су се дистрибуисали у зубе остали у динамичном балансу са нормалном грађом зуба, тј. били су замијењени калцијумом у хидроксилапатитним кристалима. Кандидат указује на опасност олова у загађеним подручјима и детаљно описује како повећане концентрације олова могу дјеловати на нормалан развој дјеце и на ресорпцију калцијума, селена, бакра, жељеза и магнезијума и на смањену активности различитих ћелијских ензима што представља *и разлог* због којег је истраживање предузето. Истакнуто је да се олово највише накупља у бубрезима, јетри, костима и зубима. Продукти који елиминишу олово из тијела укључују витамин С и Е, селен, жељезо и амино киселине, као сто су метионин и цистеин. Загађење околине тешким металима, доводи до тога, да их тијело апсорбује.

Основни циљ истраживања био је да се испита концентрација олова у тврдим зубним ткивима и утицај олова на медијаторе одонтогенезе у пулпи експерименталних животиња.

Ближи *циљеви* истраживања били су :

-Да се СЕМ/ЕДС анализом одреди концентрација олова у тврдим зубним ткивима пацова са експериментално изазваним дијабетесом, након 14 дана излагања животиња олову.

-Да се СЕМ/ЕДС анализом одреди концентрација олова у тврдим зубним ткивима пацова са експериментално иззваним дијабетесом, након 30 дана излагања животиња олову.

-Да се имунохистохемијском анализом одреде експресије медијатора одонтогенезе фибронектина, тенасцина и ТГФ- $\beta 1$  фактора у пулпи зуба пацова са експериментално иззваним дијабетесом након излагања олову 14 дана.

-Да се имунохистохемијском анализом одреде експресије медијатора одонтогенезе фибронектина, тенасцина и ТГФ- $\beta 1$  фактора у пулпи зуба пацова са експериментално иззваним дијабетесом након излагања олову 30 дана.

-Да се формира скала експресије медијатора фибронектина, тенасцина и ТГФ- $\beta 1$ , код здравих животиња код којих пулпа није стимулисана.

*Хипотезе* овог истраживања су:

- Олово се интензивно одлаже у глеђи и дентину зуба пацова.

- Олово утиче на експресију медијатора одонтогенезе-фибронектина, тенасцина и ТГФ- $\beta$ 1 у пулпи.
- Дијабетес значајно мијења експресију медијатора одонтогенезе-фибронектина, тенасцина и ТГФ- $\beta$ 1.

#### **IV 2. Преглед претходних истраживања**

Дошло се до резултата да се у дентална ткива уgraђује олово у току развоја зуба, као што су очене и хипоплазије глеђи, абразије и дискордације на зубима у загађеним подручјима и то би могли бити показатељи, а да се глеђ мијења под утицајем олова. Зуби су корисна, дуготрајна евиденција о дистрибуцији олова, о чему говоре многа епидемиолошка истраживања истичући да олово утиче на настанак каријеса и да дјеца интоксицирана оловом, имају веома висок ниво олова уgraђеног у дентин, у близини пулпе [1,2].

Бројни истраживачи су успјешно култивисали фибробласте из пулпе дентина и доказали да фибробласти имају способност трансформације у одонтобласте, који формирају дентин као одговор на повреду. Додатно су испитивали и ефекат олова на проколагени тип и производњу остеокалцина, а резултати су показали да олово при концентрацији 10-5 – 10-7M повећава размножавање пулпних ћелија код људи IN VITRO [3-5]. У овом поглављу кандидат описује медијаторе одонтогенезе :

Репаративна дентиногенеза је сложен процес, који прије секреције дентина, обухвата читав низ догађаја тј. ћелијску диобу прогенитора, хемотаксу, ћелијску миграцију, адхезију и диференцијацију у ћелије сличне одонтобластима. Нарочито велике недоумице постоје у дефинисању иницијативне фазе у диференцијацији нових одонтобласта, који треба да замијене регуларне одонтобласте, уништене дејством иритативних фактора, и започну са дентиногенезом. У вези са овом проблематиком, спроведена су бројна истраживања те се иницијативни утицај за диференцијацију нових одонтобласта, приписивао коштаном сијалопротеину, јону калцијума, екстрацелуларном матриксу, фактору раста, цитокинима. Иако су реакције пулпо-дентинског комплекса на ноксе давно објашњене, њихови ћелијски и молекуларни механизми још нису у потпуности истражени. Сигнални молекули ових процеса су ткивни фактори раста, тенасцин, фибронектин и др. Повећана експресија хормона раста је пронађена у ћелијама пулпе током терцијарне дентиногенезе и утврђена је улога овог фактора раста на диференцијацију специфичних ћелија пулпе неопходних у репараторном одговору. Студије су показале да ткивни фактори раста могу да изазову трансдентинску стимулацију одонтобласта IN VIVO и да утиче на васкуларне реакције неопходне у реактивној дентиногенези [6,7].

Тенасцин-ц је ектраћелијски, протеин матрикса, У студијама, које су најчешће рађене на пацовима и мишевима, видљива је привремена заступљеност тенасцина на пулпи. Уочена је смањена вриједност тенасцина у одонтобластима. Истраживање на мишевима такође је показало да је тенасцин изражен у ћелијама пулпе дентина IN VITRO и да се његово дејство знатно повећало под утицајем TGF- $\beta$ 16, HGF, и RA у mRNA и протеинима. Доказано је да тенасцин кочи (успорава) спајање ћелија помоћу фибронектина како би се смањило спајање у току развоја зуба. Биолошке функције тенасцин-ц су још увијек недовољно разумљиве[8-10].

Фибронектин је екстрацелуларни гликопротеин матрикса и доказано је, да су молекули фибронектина уплетени у различите ћелијске функције укључујући адхезију, миграцију и диференцијацију [11-15]. Током развоја зуба, диференцијација одонтобласта је контролисана од стране специфичне базалне мембрани и нека истраживања указују на присуство и везу фибронектина и ове базалне мембрани, који имају важну улогу у диференцијацији одонтобласта. Сматра се да фибронектин и базална мембра посредују у издуживању и поларизацији

одонтобласта, трансмембраником интеракцијом. Ова сазнања указују на могућу улогу фибронектина у секундарној иницијацији диференцијације одонтобластоидних ћелија [17-20].

#### Литература цитирана у IV 2.

- [1] Orzechowska-Wylegała B, Obuchowicz A, Malara P, Fischer A, Kalita B. Cadmium and lead accumulate in the deciduous teeth of children with celiac disease or food allergies. *Int J Stomatol Occlusion Med.* 2011;4(1):28-31. Epub 2011.
- [2] Abdullah M, Rahman FA, Gnanasegaran N, Govindasamy V, Kasim NHB, Musa S. Diverse Effects of Lead Nitrate on the Proliferation, Differentiation, and Gene Expression of Stem Cells Isolated from a Dental Origin. *The Scientific World Journal* 2014;12p.
- [3] Er F, Koparal M, Deveci E, Irtegün S. Immunohistochemical and histopathological changes in the teeth of rats after lead acetate application. *Anal Quant Cytopathol Histopathol.* 2015;37(2):109-114.
- [4] Moradi S, Saghravanian N, Moushekhan S, Fatemi S, Forghani. Immunohistochemical Evaluation of Fibronectin and Tenascin Following Direct Pulp Capping with Mineral Trioxide Aggregate, Platelet-Rich Plasma and Propolis in Dogs' Teeth. *Iran Endod Journal* 2015;10(3):188-92.
- [5] Abbas Mesgarani, Sina Haghifar, Narges Eshkevari, Maryam Ehsani, Soraya Khafri, Shima Nafarzade, Zahra Damankesh, Frequency of odontogenic periradicular lesions in diabetic patients, *Caspian J Intern Med.* 2014 Winter; 5(1): 22–25.
- [6] Honore SM, Zelarayan LC, Genta SB, Sanchez SS. Neuronal loss and abnormal BMP/Smad signaling in the myenteric plexus of diabetic rats. *Autonomic Neuroscience-Basic & Clinical* 2011;164(1-2):51-61.
- [7] Zarrabi MH, Javidi M, Jafarian AH, Joushan B. Immunohistochemical expression of fibronectin and tenascin in human tooth pulp capped with mineral trioxide aggregate and a novel endodontic cement. *J Endod.* 2011;37(12):1613-8.
- [8] Leites AB, Baldissera EZ, Silva AF, Tarquinio S, Botero T, Piva E, Demarco FF. Histologic response and tenascin and fibronectin expression after pulp capping in pig primary teeth with mineral trioxide aggregate or calcium hydroxide. *Oper Dent.* 2011;36(4):448-56.
- [9] Bostrom KI, Jumabay M, Matveyenko A, Nicholas SB, Yao YC. Activation of Vascular Bone Morphogenetic Protein Signaling in Diabetes Mellitus. *Circulation Research* 2011;108:446-457.
- [10] Tabatabaei FS, Torshabi MJ Effects of Non-Collagenous Proteins, TGF- $\beta$ 1, and PDGF-BB on Viability and Proliferation of Dental Pulp Stem Cells *Oral Maxillofac Res.* 2016;31;7(1):e1.
- [11] Bal C, Oztas N, Cincik M, Baris E. Immunolocalization of fibronectin during reparative dentinogenesis in rat molar teeth after pulp capping with Mineral trioksid agregat and Calcium hydroxide. *NY State Dent J* 2011;77(6):36-42
- [12] Šubarić Lj, Mitić A, Matvijenko V, Živković M, Živković D, Jovanović R, Perić D, Mitić A, Veselinović J. Promene na pulpi i dentinu nakon direktnog i indirektnog prekrivanja alkalnim cementom. *Praxis medica* 2013;42(3):23-3.
- [13] Issa Mardegan , Tocchini de Figueiredo F.A, Ramos J, Gerlach RF, Reiko Hashimoto Kawakita E. Tooth lead signal obtained by SEM-EDS may be useful for detectionof environmental contamination with this metal. *Forensic Sci Int* 2012;214(1-3):96-104.
- [14] Berkan O. et al. Pulpal Progenitors and Dentin Repair. *Advances in Dental Research* 2011;23:307-312
- [15] Hwa-Yen L, Jiunn-Hsing C, Chun-Yu C, Hung-Lin C, Chung-Wei Y, Yuh-Chang S. Study of P, Ca, Sr, Ba and Pb Levels in Enamel and Dentine of Human Third Molars for

Environmental and Archaeological Research. Advances in Anthropology 2013;3(2):71-77.

- [16] Baranowska-Bosiacka I, Gutowska I, Marchlewicki M, Noceń I, Czupryńska K, Olszewska M, Skotnicka E, Jach M, Wiszniewska B, Chlubek D. The Effect of Melatonin Supplementationon Lead, Calcium and Magnesium Distributionin the Tissues of Lead-Exposed Rats, Polish J. of Environ. Stud. 2008;17(2):181-188.
- [17] Demarco FF, Conde MC, Cavalcanti BN, Casagrande L, Sakai VT, Nör JE. Dental pulp tissue engineering. Brazilian Dental Journal 2011;22(1):3-13.
- [18] Cooper PR, Takahashi Y, Graham LW, Simon S, Imazato S, Smith AJ. Inflammation-regeneration interplay in the dentine-pulp complex. Journal of Dentistry 2010;38(9):687-697
- [19] Vulović M, Beloica D, Gajić M, Carević M, Stevanović R, Ivanović M, Vulićević Z, Marković D. Beograd: Elit-Medica; 2002
- [20] Katanzaro Catalano P, Benassi V, Caldarini C, Cianfriglia,L, Mosticone R, Nava A, Pantano W, Porreca F. Health status and life style in Castel Malnomo (Rome, I-II cent. A.D.). Med Secoli 2010;22:111–128.

#### **IV 3. Допринос тезе у ријешавању изучаваног предмета истраживања**

На овим подручјима је јако мало број експерименталних студија која се баве фундаменталним истраживањима и које користе сличну методологију рада, и у укупној свјетској литератури постоји веома мали број радова који се баве проблемом ћелијских механизама репаративне дентиногенезе и експресијом медијатора одонтогенезе у пулпи, код особа изложених тровањем оловом и код особа оболелих од дојабетеса, већ су углавном базирана на здраву популацију. Управо због тога је у овој дисертацији мр сц. Ирена Кузмановић Радман дала *допринос* својом студијом која се бавила испитивањем концентрација олова у тврдим зубним ткивима и утицајем олова на медијаторе одонтогенезе у пулпи експерименталних животиња. Или боље речено, анализа резултата је обухватала спектрофотометријску анализу концентрације олова у пресјечима зуба, затим патохистолошку анализу грађе глеђи и дентина у условима интоксикације оловом као и имунохистохемијску анализу ослобађања медијатора одонтогенезе (фибронектина, тенасин и ТГФ бета 1) у зуба пацова са експериментално изазваним ДМ-ом, у условима интоксикације оловом.

#### **IV 4. Научни и прагматични допринос дисертације**

Студије новије савремене литературе указују да зуби пружају корисну и дугорочну евиденцију о утицају олова на човјека и да је излагање олову повезано са утицајем на опште здравље, укључујући анемију, хипертензију, патологију кости и зуба подразумјевајући и каријес тврдих зубних ткива зако да спроведено истраживање има значајан *научни* допринос. Такође се интензиван метаболизам пулпе, доказано успорава у неким метаболичким оболењима као што је дијабетес, поготово у условима интоксикације оловом.

Резултати ове студије дају *прагматичан* допринос за унапређење протокола директног и индиректног прекривања пулпе зуба код пацијената са поремећајем метаболизма пулпе.

Уколико се зна да број оболелих од дијабетеса у свијету има сталну тенденцију раста (данас постоји скоро 250 милиона људи са дијабетесом у свијету и сматра се да ће за 20 година овај број порasti на 380 милиона) и да број људи изложених тровањем оловом у порасту (бензинске пумпе, штампарије), јасно је зашто је кандидат као циљну групу одабрао баш ову приоритетну скupину пацијената. Важно је истаћи и да је циљна група корисника добијених резултата немјерљива. Очекивани резултати се могу уградити у протоколе лијечења зуба у домовима

здравља, поликлиникама као и у протоколе у високошколским установама које у оквиру наставе примају пацијенте и пружају стоматолошке услуге. Анализа концентрације олова у тврдим зубним ткивима се може користити и у форензичке сврхе те резултати студије могу бити примјенљиви и у тој области, те дати свој прагматични допринос.

## V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

### V 1.Материјал и критеријуми

За узорак су одабрани пацови Wistar соја, због велике сличности у физиологији пулпе зуба пацова са физиологијом пулпе хуманих зуба. Експеримент је обухватао 42 лабораторијска пацова Wistar соја односно 682 зуба. Студија је спроведена у виваријуму Природно-математичког факултета у Бањалуци (одобрено од стране Етичког комитета Завода за стоматологију). Животиње су биле старе два мјесеца а тјелесна тежина им је износила од 150-200 г. Пацови су држани у групним плексиглас кавезима, на 12 часовном режиму светлости (07.00-19.00) при температури ваздуха  $22^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2$ ) и влажност  $60\% \pm 10\%$ , где су имали слободан приступ храни и води током трајања експеримента. Почетком експеримента индивидуе су одвојене у одговарајуће тестне и контролне групе. Омогућен им је период адаптације у трајању од 15 дана, након чега је започет третман.

### V 2. Кратак увид у метод истраживања

Експерименталне животиње су извагане и забиљежена је њихова тјелесна тежина. Свакој животињи је одређен ниво шећера у крви прије почетка експеримента. Гликемија је мјерена апаратом за мјерење гликемије из крви репне вене. Раствор Аллохана-а је добијен растварањем 100mg праха у 10 ml физиолошког раствора и потом апликован интраперитонеално у дози 100 mg на килограм тјелесне тежине пацова. Протокол је понављан све док измјерена вриједност гликемије није прешла 200mg/dcl (животиња у хипергликемији). Аллохан дјелује на циљне ћелије (β ћелије панкреаса) токсично и уништава их. Међутим, ова оштећења панкреаса, код пацова, су реверзибилна због изузетне регенеративне способности ћелија панкреаса па је неопходна контрола вриједности глукозе у крви пацова. Постигнута хипергликемија је контролисана редовним мјерењем. За хистолошку анализу, попречни пресјеки молара добијени у нивоу зубне пулпе су сакупљани на одговарајућа предметена стакалца и сушени на  $60^{\circ}\text{C}$ . У процесору за аутоматско бојење (Leica ST4040) ткивни пресјеки су депарафинисани, рехидрирани и испирани у дестилованој води. Након тога су обожени стандардном методом хематоксилин - еосин (ХЕ). Дефинитивни препарати су анализирани светлосним микроскопом.

*Промјена у односу на план истраживања који је представљен у пријави ове докторске дисертације се односила на повећање узорка пацова који су добијали олово у преоду од 30 дана, и код којих није био индукован дијабетес. Сви испитивани параметри пружају довољно елемената који чине ово истраживање квалитетним.*

*Статистичка обрада података* је била адекватна. Од података прикупљених клиничким и лабораторијским истраживањем формирана је датотека у Microsoft Excel из кога је експортована у статистички програмски пакет IBM SPSS20 уз помоћ којег су подаци анализирани.

Од дескриптивних статистичких метода коришћени су: фреквенција, проценат, аритметичка средина, стандардна девијација, медијана, минимум и максимум. Од аналитичких статистичких метода коришћени су Hi-квадрат тест, Man Witney тест и Spearmanova корелација ранга. Резултати су приказани табеларно и графички.

## VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

### VI 1. Резултати истраживања

Добијени резултати ове докторске дисертације приказани су на 21 страници, а анализирани су кроз дискусију на 16 страница. У првој фази истраживања извршена је анализа хистолошких препарата пулпе зуба пацова. На хистолошком приказу пресјека пулпе здравог зуба пацова уочава се трабекуларна грађа дентина са палисадно постављеним одонтобластима дуж унутрашње ивице пулпног ткива, који чине синцијални слој ћелија. Ћелијска структура у комори пулпе је потопљена у ћелијски матрикс. Здрав зуб представља позитивну контролу у свакој експерименталној групи. Резултати имунохистохемијске анализе су показали да је висока фокалну позитивност фибронектина код пацова који су добијали олово у води током 14 дана уочена у 48% случајева, слаба или умјерена фокална и висока дифузна позитивност по 24% док је одсуство бојења регистровано у 4% случајева. У групи пацова који су добијали олово у води током 14 дана висока фокална позитивност тенасцина-ц је уочена у 72,0% случајева, слаба или умјерена фокална у 8% и висока дифузна позитивност у 12%, док је одсуство бојења регистровано у 8% случајева. У групи пацова који су добијали олово у води током 30 дана висока фокална позитивност је уочена у 45,5% случајева, слаба или умјерена фокална у 36,4% и висока дифузна позитивност у 33,3% ,док је одсуство бојења није регистровано ни у једном случају. У групи пацова који су добијали олово у води током 14 дана висока фокална позитивност ТГФβ-1 је уочена у 20,0% случајева, слаба или умјерена фокална у 24,0 % и висока дифузна позитивност у 36,0 % , док је одсуство бојења регистровано у 20,0 % случајева. Присуство морфолошких промјена било је најчешће у групи пацова која је пила олово у води за пиће 14 дана . У групи пацова које су пиле олово у води за пиће 30 дана присуство морфолошких промјена нађено је у 6 животиња. Ни код једног пацова из контролне групе није забиљежено присуство морфолошких промјена. Такође, резултати ове дисертације су показали разлику у појави пулпитиса, гингвитиса и хиперплазије гингиве код пацова који су добијали олово 14 и 30 дана. У другој фази истраживања рађена је СЕМ ЕДС анализа у три слоја зуба: у глеји, у глејно-дентинској граници, у дентину и у пулпи. Овом анализом одређивани су масени удјели елемената у дијеловима зуба, те је утврђено да унос олова утиче на масени удио поједињих елемената.

### VI 2. Критичност и коректност тумачења резултата

Резултати истраживања су приказани на прегледан начин. Они су јасно и објективно тумачени, а кандидаткиња је показала објективан и критички став у процјени ових резултата, посебно у дијелу који се односи на компарацију са резултатима сличних истраживања. Дискусија резултата покazuје да је кандидат способан да прикупи, обради, презентује резултате на врло прегледан начин, као и да на јасан и

свеобухватан начин разматра приказане резултате и упореди их с литературним подацима.

### VI 3. Теоријски и практични допринос дисертације и нови истраживачки задаци

*Основни теоријски допринос дисертације је следећи:*

Уколико се зна да број обольелих од дијабетеса у свијету има сталну тенденцију раста ( данас постоји скоро 250 милиона људи са дијабетесом у свијету и сматра се да ће за 20 година овај број порasti на 380 милиона) и да је број људи изложених тровањем оловом у порасту (бензинске пумпе, штампарије), јасно је зашто је кандидат као циљну групу одабрао баш ову приоритетну скупину пацијената. Важно је истаћи и да је циљна група корисника добијених резултата немјерљива. Очекивани резултати се могу уградити у протоколе лијечења зuba у домовима здравља, поликлиникама као и у протоколе у високошколским установама које у оквиру наставе примају пациенте и пружају стоматолошке услуге.

*Основни практични допринос дисертације је следећи:* Очекује се да ће резултати ове студије бити употребљиви за унапређење протокола директног и индиректног прекривања пулпе зuba код пацијената са поремећајем метаболизма пулпе. Анализа концентрације олова у тврдим зубним ткивима се може користити и у форензичке сврхе те резултати студије могу бити примјењиви и у тој области.

*Основни правци даљих истраживања:*

Резултати ове дисертације, дају одговоре на постављени проблем истраживања, али и указују на наредне правце истраживања у смислу одређивања прецизног и оптималног протокола за одређивање олова у зубима.

Даља истраживања могу испитивати утицај олова на настанак промјена на глеђи, раст и развој зuba, настанак зубног каријеса, промјена на меким ткивима усне дупље.

## VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр сц. Ирене Кузмановић Радман под називом „Утицај олова на дистрибуцију медијатора одонтогенезе у дијабетесом измјењеној пулти зуба пацова“ израђена је у складу са образложењем које је кандидат приложио приликом пријаве теме.

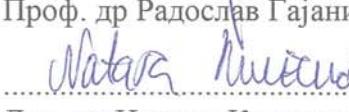
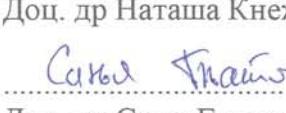
Докторска дисертација урађена је према правилима и принципима научно-истраживачког рада и резултат је оригиналног научног рада кандидата. Резултати добијени имунохистохемијском анализом и скенирајћом електронском микроскопијом, јасно су указали да олово има велики утицај на промјене на тврдим зубним ткивима као и на медијаторе одонтогенезе пулпе. Кандидаткиња је на основу резултата понудила начин превазилажења проблема и поставила оквир за даља истраживања. Поред тога кандидаткиња је прецизно и логички анализирала предложену тему истраживања и довела податке у везу са постављеном хипотезом. Такође, кандидаткиња је тему ове дисертације, кроз јасно и концизно писање учинила интересантном и корисном и за истраживаче и за практичаре. Дисертација представља оригинални допринос стоматолошкој науци, јер проширује постојећа знања о дејству појединачних поступака за уклањање адхезива на површину глеђи зуба.

Чланови Комисије, на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом: „Утицај олова на дистрибуцију медијатора одонтогенезе у дијабетесом измјењеној пулти зуба пацова“ мр сц. Ирене Кузмановић Радман и предлажу члановима Наставно-научног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци да прихвате овај Изјештај и омогуће кандидату да своју докторску дисертацију јавно брани.

## ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 21.3.2017. године



1.  Доц. др Александра Ђорђевић, предсједник
2.  Проф. др Славољуб Живковић, ментор и члан
3.  Проф. др Радослав Гајанић, члан
4.  Доц. др Наташа Кнежевић, члан
5.  Доц. др Светлана Ђјато, члан