



ИЗВЈЕШТАЈ
*о оијени подобности теме, кандидата и ментора за израду докторске
дисертације*

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Орган који је именовао комисију: Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Бањалука

Датум именовања комисије: 07.03.2019

Број одлуке: 18/3.232/2019

Састав комисије:

1. Цицмил Смиљка	Ванредни професор	Стоматологија, Орална хирургија и медицина
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет у Фочи, Универзитет у Источном Сарајеву		Предсједник
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
2. Којић Желька	Доцент	Стоматологија, Пародонтологија и орална медицина
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет у Бањој Луци, Универзитет у Бањој Луци		Члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
3. Веселиновић Валентина	Доцент	Стоматологија, Стоматолошка протетика
Презиме и име	Звање	Научно поље и ужа научна област
Медицински факултет у Бањој Луци, Универзитет у Бањој Луци		Члан
Установа у којој је запослен-а		Функција у комисији
4.	Презиме и име	Звање
		Научно поље и ужа научна област

	Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији
5.	Презиме и име	Звање
	Научно поље и ужа научна област	Функција у комисији
	Установа у којој је запослен-а	Функција у комисији

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

1. Име, име једног родитеља, презиме: Тијана (Слободан) Адамовић
2. Датум рођења: 09.07.1983 Мјесто и држава рођења: Бања Лука, БиХ

II.1 Основне студије

Година уписа: 2002 Година завршетка: 2009 Просјечна оцјена током студија: 8,94

Универзитет: Универзитет у Бањој Луци

Факултет/и: Медицински факултет

Студијски програм: Стоматологија

Звање: доктор стоматологије

II.2 Мастер или магистарске студије

Година уписа: Година завршетка: Просјечна оцјена током студија:

Универзитет:

Факултет/и:

Студијски програм:

Звање:

Научна област:

Наслов завршног рада:

II.3 Докторске студије

Година уписа: 2017/18 .године препис са Медицинског факултета Универзитета у Новом Саду
Факултет/и: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет
Студијски програм: Биомедицинске науке
Број ЕЦТС до сада остварених: 120 Просјечна оцјена током студија: 9.67

II.4 Приказ научних и стручних радова кандидата

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија ¹
1.	Јанковић О, Кузмановић Радман И, Адамовић Т, Илић С, Ђери А, Јосиповић Р. Испитивање рубног заптивања самонагризајућег течног композитног материјала. Стоматолошки гласник Србије . 2013 ;60(4):200-9.	

Кратак опис садржине:

Највећи недостатак композитних материјала је скупљање при полимеризацији и последично настајање микропукотине, па тржисте данас нуди велики број различитих нових композитних материјала. Циљ овог рада је био да се методом бојених раствора провери квалитет рубног затварања код кавитета V класе рестаурисаних самонагризајућим течним композитом материјалом Vertise Flow полимеризованим различитим техникама полимеризације. Испитивања су обављена на 60 екстрагованих интактних зуба хуманог поријекла (30 премолара и 30 молара).

Рад припада проблематици докторске дисертације: **ДА** **НЕ** **ДЈЕЛИМИЧНО**

P. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Павлић В, Зубовић Н, Илић С, Адамовић Т. Untypical Amlodipine-induced gingival hyperplasia. Case Rep Dent. 2015;2015:756976.	

Кратак опис садржине:

Амлодипин је дихидропиридински блокатор калцијумских канала треће генерације често се користи у терапији хипертензије. Међу многим нежељеним ефектима, амлодипин је повезан са гингивалним хиперплазијом (ГО) који се обично јавља унутар прва три мјесеца од почетка терапије у дози од 10 мг / дан. Међутим, постоје веома мали број извештаја о амлодипин-индукованом гингивалном хиперплазијом (АИГО) у мањој дози (5 мг / дан) и само након краткотрајног давања. 64-годишњи мушки пацијент који болује од хипертензија, користио је амлодипин (5 мг / дан) четири године, тражио је медицинску помоћ на Одељењу за

¹ Категорија се односи на оне часописе и научне скупове који су категорисани у складу са Правилником о публиковању научних публикација („Службени гласник РС“, бр. 77/10) и Правилником о мјерилима за остваривање и финансирање Програма одржавања научних скупова („Службени гласник РС“, бр. 102/14).

пародонтологију и оралну медицину, Завода за стоматологију, Бања Лука, Босна и Херцеговина. Пацијент се жалио жвачни проблеми због екстензивног максиларног ГО заједно са болом, крварењем, и непријатан мирисом. Клинички и хистолошки докази били су у складу са АИГО. Третман прве линије састојао се од замене амлодипина (амлодипин је био замењена са еналаприлом, 5 мг / дан) и планирањем скалирања и кореном / СРП. У једно мјесечном праћењу, замјеном лијекова и СРП резултирали су одређеним смањењем запаљење и значајно смањење симптома. Даље, гингивектомија / гингивопластика је помогла да се превазиђе ефекат ових лекова.

Рад припада проблематици докторске дисертације: ДА НЕ **ДЈЕЛИМИЧНО**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Рудолф Р, Шарик М, Веселиновић В, Адамовић Т, Бобовник Р, Каргл Р, Мајерић П. Синтеза наночестица злата кроз ултразвучну спреј пиролизу и њена примјена у штампању електроници. Савремени материјали часопис, IX-1 (2018)	

Кратак опис садржине:

Овај рад представља преглед ултрасоничне спреј пиролизе (УСП) као технике за синтезу наночестица злата (AuNPs). Механизам синтезе је обухватио припрему раствора прекурсора од Au(III) ацетате и проучавање процесних параметара. AuNPs су карактерисане различитим техникама, као што су DLS, UV-вис и CEM-EDX анализе. У наредном кораку, AuNPs мастило је припремљено следећом процедуром: (i) концентрација AuNPs кроз Ротавапор, (ii) филтрација концентрисаних AuNPs кроз Amicon Ultra 15 центрифугалне филтере. Затим је коришћена директно за штампање на Ag плочици. У завршном дијелу, представљамо неке информације о будућим примјенама AuNPs, које могу бити у штампању електроници са вођеним обрасцима

Рад припада проблематици докторске дисертације: ДА НЕ **ДЈЕЛИМИЧНО**

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Адамовић Т, Стојчић Ј, Илић Ј, Арбутина А. Утицај оралних антисептика Елмекса и Листерина на дентални биофилм. Зборник радова научног скупа „Савремени материјали“, Академија наука и умјетности Републике Српске. 2014; 22:717-6.	II

Кратак опис садржине:

Дентални биофилм је опалесцентни биофилм састављен од микроорганизама,

превасходно бактерија, који се неадекватним одржавањем оралне хигијене акумулира на тврдим и меким ткивима усне дупље, изазивајући бројна оболења. Елмекс (Elmex) је орални антисептик који садржи амино флуориде који се врло лако концентришу на површини зуба и формирају заштитни омотач око глеђи, што чини глеђ много отпорнијом на дјеловање кариогених бактерија. Амино флуориди такође дјелују и на метаболизам бактерија које формирају дентални биофилм и тако инхибишу акумулацију денталног биофилма. Листерин (Listerin) је орални антисептик који спада у деривате фенола којем су приододата есенцијална уља израженог антимикробног дјеловања: ментол, еукалиптол и метил-салцилат. Он инхибише акумулацију денталног плака, има антимикробну активност и такође је ефикасан против непријатног задаха. Циљ овог истраживања је утврдити ефикасност Листерина и Елмекса на спречавању акумулације денталног биофилма.

Рад припада проблематици докторске дисертације: ДА НЕ ДЈЕЛИМИЧНО

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница	Категорија
1.	Тртић Н, Адамовић Т, Арбутина Р. Антимикробна средства у терапији оболења усне дупље. Зборник радова научног скупа „Савремени материјали“, Академија наука и умјетности Републике Српске.2017;35: 355-364.	

Кратак опис садржине:

Хемиотерапеутици или антимикробни лијекови су супстанце које спречавају развој патогених бактерија, али и других микроорганизама у организму човјека, а да у истим концентрацијама не проузрокују токсичност која може да нашкоди пацијенту. Антиинфективни лијекови су откривени и уведени у терапију оболења у последњих 70 година. Њихово откриће и примјена у терапији представља једно од најзначајнијих достигнућа у историји медицине. Примјена ових лијекова измјенила је ток болести и прогнозу многих инфективних оболења. Процењује се да постоји више од 400 оболења која погађају усну дупљу. Најраспрострањенија су кариес и оболења пародонцијума. Оболења потпорног ткива зуба представљају хронична инфективно деструктивна оболења, чији почетак болести је условљен присуством бројних бактерија на дентогингивалном комплексу. Даљи ток оболења условљен је имунолошким и одбрамбеним статусом домаћина. Антимикробна средства која се могу примјењивати у терапији оболења пародонцијума су веома разноврсна. Веома је важно изабрати адекватно и ефикасно антимикробно средство како би се успјешно сузбила инфекција потпорног ткива

зуба.

Рад припада проблематици докторске дисертације: ДА НЕ ДЛЕЛИМИЧНО

Да ли кандидат испуњава услове? ДА НЕ

III ПОДАЦИ О МЕНТОРУ/КОМЕНТОРА

Биографија ментора/коментора (до 1000 карактера):

Биографија ментора:

Проф. др Милош Хацимихаиловић, ужа научна област Пародонтологија и орална медицина, Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду и Медицински факултет Универзитет у Бањој Луци. Ванредни професор на Клиници за пародонтологију и оралну медицину Стоматолошког факултета Универзитета у Београду.

Године 1989/90. уписује факултет, година дипломирања 1995. Пројесечна оцјена 8.40

Година магистрирања 2001. Магистарски рад под називом: Клиничка и лабораторијска испитивања пацијената оболелих од Сјогреновог синдрома

2001. Специјализација из области Пародонтологија и орална медицина

Година одбране доктората 2007. Докторска дисертација под називом: "Специфичности клиничких и патохистолошких промена код оралних лихен плануса-а (ОЛП)"

(Март 2007. Промоција у доктора стоматолошких наука)

2000 - 2002: Асистент приправник на предмету Орална медицина Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

2002 - 2011: Асистент на предмету Орална медицина Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

2011 - 2015 Доцент на предмету Орална медицина и Пацијенти ризика Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

2015 Ванредни професор на предмету Орална медицина и Пацијенти ризика Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

Уџбеници и књиге:

1. Орална медицина, практикум. Аутори: Љ. Јанковић, С. Чакић, В. Лековић, Б. Димитријевић, М. Хаци-Михаиловић, А. Пуцар. Завод за уџбенике Београд 2007.

2. Орална медицина за оралне хигијеничаре. Аутори: Саша Чакић, Љиљана Јанковић, Ана Пуцар, Милош Хаци-Михаиловић, Драган Станимировић. Стоматолошки факултет, Универзитет у Београду 2011.

Биографија коментора:

Проф др. Ребека Рудолф, ужа научна област Материјали, машински факултет, Универзитет у Марибору.

Ребека Рудолф је рођена 1969. године у Словен Градцу, Словенија. Након завршетка Машињског факултета у Марибору уписују магистарске студије и године 1997 добија титулу магистра. Зати уписује докторске студије које завршава 2002. године. Тема докторске дисертације је „Унутрашња оксидација дисконтинуираног композита из Цу-Ц система“. Те исте године добила је научну награду за најбољи докторат регије Помурје. 2002. године постаје истраживач асистент на Машињском факултету у Марибору 2003. године добија титулу асистент са докторском дисертацијом на Машињском факултету у Марибору 2012. године добија титулу ванредни професор на Машињском факултету у Марибору, ужа научна област Материјали Од 2006. Године је запослена и у Златарни Цеље у Цељу као шеф истраживачке групе. До сада је објавила преко 300 радова.

Радови из области којој припада приједлог докторске дисертације:

Р. бр.	Аутори, наслов, издавач, број страница
1.	Хаџи-Михаиловић М , Јанковић Љ, Чакић С. Циркулаторни имуни комплекси, имуноглобулин Г, саливарни протеини и саливарни имуноглобулин А код болесника са Сјогреновим синдромом. Срп Арх Целок Лек. 2009 Мар-Апр;137(3-4):134-39.
2.	Хаџи-Михаиловић М , Раибауд Х, Монтеил Р, Јанковић Љ. Expression of Fas/FasL in patients with oral lichen planus. Journal of BUON 14:487-93, 2009.
3.	Хаџи-Михаиловић М , Раибауд Х, Монтеил Р, Чакић С, Ђурић М, Јанковић Љ. Bcl-2 expression and its possible influence on malignant transformation of oral lichen planus (OLP). Journal of BUON 15:362-8, 2010.
4.	Јанковић С, Алексић З, Николић ЈН, Станимировић Д, Хаџи-Михаиловић М , Стојић З, Пуцар А и др. The effect of chlorhexidine on the receptor activator of nf-kappa b ligand (rankl) and osteoprotegerin (opg) expression in chronic periodontitis in humans and companion animals. Acta Veterinaria-Beograd. 2010;60(5-6):641-52.
5.	Ракић М, Зелић К, Павлица Д, Хаџи-Михаиловић М , Миласин Ј, Миличић Б, и др. Association between clinical parameters and the presence of Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in patients with progressive periodontal lesions. Војносанитетски Преглед.. 2010;67(11):898-902.

Да ли ментор испуњава услове?

ДА

НЕ

IV ОЦЈЕНА ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ

IV.1 Формулација назива тезе (наслова)

Наночестице злата у саставу полиметилметакрилатних протеза као превентивна мјера од настанка оралних инфекција.

Наслов тезе је подобан? **ДА** **НЕ**

IV.2 Предмет истраживања

Основи предмет овог истраживања је утврђивање могућности кориштења наночестице злата произведених ултразвучном спреј пиролизом у стоматологији кроз развој биокоматибилног акрилатног материјала са побољшаним антимикробним својствима како би се смањила или елиминисала упада оралне слузнице која је честа појава особа које користе мобилне зубне протезе.

Предмет истраживања је подобан? **ДА** **НЕ**

IV.3 Најновија истраживања познавања предмета дисертације на основу изабране литературе са списком литературе

На основу изабране литературе, издвојићемо три најновија истраживања из области предмета истраживања ове дисертације: *Ki Young Nam. Antifungal effect and characterization of denture PMMA-nanocomposite containing gold, platinum and silver nanoparticles. Korean Journal of Dental Materials. 2014; 41(1):67-75. [7]. Ki Young Nam. Characterization and antifungal activity of the modified PMMA denture base acrylic: Nanocomposites impregnated with gold, platinum, and silver nanoparticles. Alexandru Grumezescu, editor. Nanobiomaterials in Dentistry. Applications of Nanobiomaterials. Elsevier 2016. p. 321-323 [2]. Morsy MA, Al-Daous MA. Mechanical properties evaluation of new AuNP-PMMA Composite. Int Rev Chem Eng. 2013;5:65–70 [17]. Aoyagi Y, et al. Application of noble metal cluster to PMMA resin and influence on mechanical properties and color. Dent Mater J. 2015; 34(6): 781–788 [18].*

Ki-Young Nam је у оквиру свог истраживања додавао наночестице злата синтетисане хемијском редукцијом (у концентрацијама 10, 50, 100, 200, 400 ppm) у топлотно полимеризирајући ПММА (Вертех®, Вертех-Дентал Б.В., Холандија). Испитивао је савојну чврстоћу и адхерирање биофилма *Candida albicans* на узорцима нанокомпозита.

На основу добијених резултата закључио је да наночестице у ПММА повећавају механичка својства ПММА и смањују количину биофилма *Candida albicans* на узорцима.. Morsy и сарадници су наночестице злата произведене хемијском редукцијом додавали у аутополимеризирајући ПММА и испитивали топлотну проводљивост и модул еластичности. Дошли су до закључка да додавањем наночестица злата у ПММА скоро се удупљава топлотна проводљивост и модул еластичности новог материјала.

Aoyagi Y. и сарадници су у склопу свог истраживања испитивали механичке особине нанокомпозита: савојну чврстоћу и тврдоћу по Викерсу нанокомпозита ПММА са додатком нано кластера злата. Добили су резултате који показују резултатима, да са додатком нано кластера злата долази до смањивања савојне чврстоће материјала али се истовремено повећава тврдоћа материјала.

- 1.Mashitah Mat Don, Chan Yen San, Jason Jeevanandam. Antimicrobial properties of nanobiomaterials and the mechanism. In: Alexandru Grumezescu, editor. Nanobiomaterials in Antimicrobial Therapy. Applications of Nanobiomaterials. Elsevier; 2016 .p. 262-274.
2. Ki Young Nam. Characterization and antifungal activity of the modified PMMA denture base acrylic: Nanocomposites impregnated with gold, platinum, and silver nanoparticles Alexandru Grumezescu, editor. Nanobiomaterials in Dentistry. Applications of Nanobiomaterials. Elsevier. 2016. p. 314-315.
- 3.Russo T, et al. Preliminary focus on the mechanical and antibacterial activity of a PMMA-based bone cement loaded with gold nanoparticles. Bioactive Materials. 2017;2:156-161.
4. Morsy M, Al-Daous M. Mechanical Properties Evaluation of New AuNP-PMMA Composite. International Review of Chemical Engineering. 2013;5:66-70.
- 5.An YANG, Dan ZHAO, Yaqin WU and Chun XU. Effect of polyimide addition on mechanical properties of PMMA-based denture material. Dental Materials Journal. 2017;36(5):560-565.
6. Nidal W. Elshereksi, Mariyam J. Ghazali, Andrastuti Muchtar, Che H. Azhari., Investigation on the Physical Properties of Denture Base Resin Filled with Nano-Barium Titanate. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 2016;10(11): 249-257.
7. Ki Young Nam. Antifungal effect and characterization of denture PMMA-nanocomposite containing gold, platinum and silver nanoparticles.Korean Journal of Dental Materials.2014;41(1):67-75.
- 8.Ghafari T, Hamed Rad F, Ezzati B. Does Addition of Silver Nanoparticles to Denture Base Resin Increase Its Thermal Conductivity?. Journal of Dental School. 2014;32(3):139-144.
9. Al Moaleem MM, Dorout IA, Elamin EF, Mattoo KA, Ghazali NAL. Biofilm Formation on

Dental Materials in the Presence of Khat: Review. JSM Dent. 2017;5(2):1087.

10. Da Silva et al. Bioactivity and architecture of *Candida albicans* biofilms developed on poly(methyl methacrylate) resin surface. Journal of biomedical materials Research B: applied biomaterials. 2010;94 (1):149-156.
11. De Castro D, Valente M, Agnelli JA, et al. In vitro study of the antibacterial properties and impact strength of dental acrylic resins modified with a nanomaterial. The Journal of Prosthetic dentistry. 2016;115(2):238-46.
12. Denise Tornavoi de Castro, Mariana Lima da Costa Valente, Carolina Patricia Aires, Oswaldo Luiz Alves, Andréa Cândido dos Reis. Elemental ion release and cytotoxicity of antimicrobial acrylic resins incorporated with nanomaterial. Gerodontology. 2017;34(3):320-325.
13. Mohamed K Al-Nafori., et al. "The Effect of Incorporating Gold and Silver Nanoparticles in Orthodontic Adhesive System on Bond Strength of Orthodontic Bracket". EC Dental Science 4. 2017: 119-131.
14. Shariq M, Friedrich B, Budic B, Hodnik N, Ruiz Zepeda F, Majeric P, Rudolf R. Successful Synthesis of Gold Nanoparticles through Ultrasonic Spray Pyrolysis from a Gold(III) Nitrate Precursor and Their Interaction with a High Electron Beam. ChemistryOpen. 2018;7:533 – 542
15. Sodagar A, Kassaei MZ, Akhavan A, Javadi N, Arab S, Kharazifard MJ. Effect of silver nano particles on flexural strength of acrylic resins. J Prosthodont Res. 2012;56:120–4.
16. Shibata T, Hamada N, Kimoto K, Sawada T, Sawada T, Kumada H, et al. Antifungal effect of acrylic resin containing apatite-coated TiO₂ photocatalyst. Dent Mater J. 2007;26:437–44.
17. Morsy MA, Al-Daous MA. Mechanical properties evaluation of new AuNP-PMMA Composite. Int Rev Chem Eng. 2013;5:65–70.
18. Aoyagi Y, et al. Application of noble metal cluster to PMMA resin and influence on mechanical properties and color. Dent Mater J. 2015; 34(6): 781–788.
19. Cierech M, Osica I, Kolenda A, Wojnarowicz J, Szmigiel D. Mechanical and Physicochemical Properties of Newly Formed ZnO-PMMA Nanocomposites for Denture Bases. Nanomaterials . 2018;8(5): 1-13.
20. Nidal W. Elshereksi, Mariyam J. Ghazali, Andrastuti Muchtar, Che H. Azhari., Investigation on the Physical Properties of Denture Base Resin Filled with Nano-Barium Titanate. Aust. J. Basic & Appl. Sci. 2016; 10(11): 249-257.

Избор литературе је одговарајући? **ДА** **НЕ**

IV.4 Циљеви истраживања

- Испитивање механичких и антимикробних карактеристика топлополимеризујућег полиметилметакрилата обогаћеног са наночестицама злата у поређењу са класичним топлополимеризујућим полиметилметакрилатом.
- Испитивање биокомпабилности топлополимеризујућег полиметилметакрилата обогаћеног са наночестицама злата

Циљеви истраживања су одговарајући? **ДА** **НЕ**

IV.5 Хипотезе истраживања: главна и помоћне хипотезе

У оквиру анализе научних проблема постављене су следеће хипотезе:

- Синтеза новог композита ПММА за израду базе протезе обогаћеног са наночестицом злата конвенционалног топлотном полимеризацијом је могућа.
- Нови композитни материјал ПММА / наночестице злата има боље механичке и антимикробне особине у поређењу са конвенционалним топлотно полимеризованим ПММА.
- Степен адхерирања микроорганизама ће бити мањи на бази заштите од ПММА обогаћеног са наночестицама злата у поређењу са конвенционалним топлотно полимеризованим ПММА.
- Овај концепт би могао да има позитиван ефекат у превенцији оралних инфекција и алергијских реакција.

Хипотезе истраживања су јасно дефинисане? **ДА** **НЕ**

IV.6 Очекивани резултати хипотезе

- Протезе израђене од ПММА са додатком наночестица злата имају боља механичка и антимикробна својства од класичних ПММА протеза без додатка наночестица злата.
- Протезе израђене од ПММА са додатком наночестица злата су биокомпабилне.

Очекивани резултати представљају значајан научни допринос? ДА НЕ

IV.7 План рада и временска динамика

I ФАЗА

-Проналажење одговарајућег технолошког поступка обогаћивања ПММА са наночестицама злата.

-Израда експерименталних узорака са различитим концентрацијама наночестица злата.
Израда контролног узорка.

-Ова дио експеримента ће радити на Машинском факултету у Марибору, Златарни Цеље у Цељу и Медицинском факултету у Бања Луци, студијски програм стоматологија.

II ФАЗА

-Карактеризација узорака ЕДКС анализом и ТЕМ анализом.

Карактеризација узорака ће се радити на Машинском факултету у Марибору и Шиншу Универзитету у Јапану.

III ФАЗА

-Испитивање механичких особина топлотнополимеризирајућег ПММА обогаћеног са наночестицама злата.

- Овај дио експеримента ће радити на Машинском факултету у Марибору и Природно-математичком факултету у Бањој Луци.

IV ФАЗА

-Испитивање биокомпабилности топлотнополимеризирајућег ПММА обогаћеног са наночестицама злата.

-Испитивање биокомпабилности ће вршити на институту за примјену нуклеарне енергије ИНЕП Београд, Србија

V ФАЗА

-Испитивање антимикробног дјеловања топлотнополимеризирајућег полиметилметакрилата обогаћеног са наночестицама злата.

- Испитивање антимикробног дјеловања ће се вршити на Институту за јавно здравство Републике Српске, филијала Бања Лука

VI ФАЗА

- Испитивање формирања и адхерирања биофилма *Candida albicans* на топлотнополимеризирајућем ПММА обогаћеном са наночестицама злата.

-Испитивање формирања и адхерирања биофилма *Candida albicans* ће се вршити на

Институту за микробиологију Стоматолошког факултета у Београду.

Планирано вријеме трајања истраживања је 24 мјесеци. У првих 4 мјесеци је планирано прикупљање литературе. Наредних 12 мјесеци је предвиђено за провођење истраживања. Последњих 8 мјесеци за писање доктората.

План рада и временска динамика су одговарајући? **ДА** **НЕ**

IV.8 Метод и узорак истраживања

Припрема узорака

Узорке материјала које ћемо користити у току експеримента подијелит ћемо у четири експерименталне групе, три групе са различитим концентрацијам наночестица злата у ПММА и једну контролну групу. Узорке ћемо направити мјешањем праха ПММА и мономера ММА (ПроБасе Хот, Ивоклар) и наночестица злата добијених ултразвучном спреј пиролизом. Синтеза наночестица злата ултразвучном спреј пиролизом из прекурсорног раствора ће се вршити у Златарни Цеље, Цеље. Узорке ћемо правити у зуботехничкој лабораторији Медицинског факултета, студијски програм стоматологија у Бањој Луци, у облику плочице, димензија $64 \times 60 \times 3,1$ мм за испитивање механичких карактеристика материјала и $50 \times 50 \times 2$ мм за испитивање биокомпатибилности, антимикробног дјеловања и тестове бифилма. Предходно ће облик узорка бити одрађен од чистог стакла а затим улаган у кивете, предвиђене за полимеризацију акрилатних протеза. Окружен калупом направљеним од кондезационог силикона, узорци ће бити урањани у меки гипс који се гуменој посуди са водом замијеша у омјеру В/П 1:2. Мијешање алабастер-гипса и воде ће се вршити уз помоћ равне инох-лопатице, и трајаће 30 секунди, а резултат мијешања ће бити смјеса густоће „јогурта“ у коју ћемо уложити у кивету како би се направио калуп за тијестасту масу чистог ПММА и ПММА обогаћеног наночестицама злата. Након везивања гипса узорак стаклене плочице биће уклоњен, а гисане површине ће се изоловати са два слоја Ивоцлар Сепаратинг Флуида , а у средини ће остати калуп за пласирање тијеста. Однос течности и праха ће бити 1 мл мономера : 2,25 г праха ПММА (ПроБасе Хот, Ивоклар) а затим ће се тој смјеши додати наночестице злата. Лопатицом ћемо добро измијешати полимер, мономер и наночестице злата . Потом ћемо оставити материјал да дозријева у затвореној посуди за мијешање при собној температури ($23^{\circ}\text{C} / 73^{\circ}\text{F}$) приближно 8 до 10 минута све док се не добије радна фаза како би се компактирало тијесто у хомогену масу и поставило у своје предходно одређене и обиљежене калупе. Ради интимног приљубљивања обе половине кивете биће их

неопходно поставити у Бигл апарат који под притиском од 80 бара истискује сав вишак тијеста. Затим ће кивете бити постављење у апрат за кување узорака , и то прво у хладну воду која се постепено загријвала 30 мин до 100 °C / 212 °F , а затим ће се кување наставило 45 минута. Пошто се полимеризација кувањем заврши, узорци ће бити остављени да се постепено хладе, а онда и ослобађани из кивета. Послије ослобађања из кивете узорци ће бити потопљени у дестилизовану воду да даљег истраживања.

Карактеризација узорака

Хемијски састав узорака ће се анализирти са FEI Quanta 200 3D који има EDX детектор. EDX (*Energy-dispersive X-ray spectroscopy*) је аналитичка техника за анализу елементарног састава или хемијску карактеризацију узорака. Осим тога, вршиће се и карактеризација узорака Трансмисионом електронском микроскопијом (TEM анализом) . Анализа ће се вршити на различитим увеличењима што ће омогућити анализу распореда наночестица злата на нанометарском ниво у узорцима материјала. EDX анализа ће се радити на Машињском факултету у Марибору а TEM анализа на Шиншу Универзитету у Јапану.

Испитивање механичких карактеристика материјала

Бендинг тест у три тачке

Испитивање савојне чврстоће и модула савијања биће спроведено на универзалној машини за тестирање ZWICK / ROELL Z010 према ИСО 178 стандарду.

Одабрана је метода испитивања преко три тачке. Брзина оптерећивања биће константна и износит ће 5 mm/min. За свако испитно тијело мјери се одговарајући прогиб за сile оптерећивања у распону од 10 N до 100 N у корацима од 10 N. Након тога наставимо са оптерећивањем испитног тијела све док не дође до лома а затим се очита максимална сила.

Испитивање микротврдоће

Тест за испитивање микротврдоће користи се код крхких материјала, где се за сврху тестирања прави мало удубљење.Утискивач је дијамант у облику издужене пирамиде са базом у облику ромба. Утискивач се притисне у полирану површину тестираног материјала познате сile, са одређеним временом задржавања (10-15 секунди) и резултат удубљења се мери помоћу микроскопа. За Викерсву методу, отисак је четверострана дијамантска пирамида с углом врха утискивача од 136 °. Након отпуштања оптерећења, мјери се дужина дијагонале отиска, онда се тврдоћа израчунава према одговарајућој

једначини:

(број д1 јединица × вриједност д1) + (број д2 јединица × вриједност д2).

Добијена вриједност се чита из одговарајућих табела, где вриједности д1 и д2 зависе од увећања окулара на уређају. За металне материјале, отисак се може мјерити директно на уређају, али за полимерне материјале није могуће, зато морамо користити свјетлосну микроскопију (ОМ) или електронску микроскопију (ЕМ).

Мјерења густине

Мјерења густине ће бити спроведена на основу поступка пикнометрије. Густина супстанце је однос масе према запремине. Тежина се добија вагањем. Обим тијела узорка израчунава се из димензија. Запремина тијела неправилних облика одређује се помицањем течности или гасова у пикнометрима (Архимедесова метода), и то воде, живе или органских течности (нпр. Хексана). У гасном пикнометру користимо хелијум. Морамо знати густину течности у којој мјеримо волумен. Пошто густина супстанце зависи од температуре, мерење се мора изводити у просторији са контролисаном температуром. Када бирамо медијум, морамо се увјерити да не постоје хемијске или физичке реакције између узорка и течности. Густина се израчунава на основу чињенице да је запремина разређене течности из пикнометра једнака запремини узорка или чврстих материјала.

Густину израчунамо из следеће једначине:

$$V_{vz} = V_t \quad \rho_{vz} = m_{vz} \times \rho_t / m_{(\rho+t)} + m_{vz} - m_{(\rho+t+vz)}$$

ρ_{vz} = густина узорка

ρ_t = густина текућине

m_{vz} = маса узорка

$m_{(\rho+t)}$ = маса пикнометра и течности

$m_{(\rho+t+vz)}$ = маса пикнометра, текућине и узорка

Одређивање површинске храпавости.

Мјерење површинске храпавости ће бити вршено методом контактне профилометрије. Мјерење се врши мјерним пипком смјештеним у мјерни сензор који клизи по испитиваном профилу константном брзином, пречника 2μm под дејством сile F=0.7mN. Промјена положаја пипка према елементима мјерне главе претварана је у електрични сигнал преко трансформатора. Забиљежен електрични сигнал се појачава и филтрира са циљем отклањања вриједности таласних дужина које не одговарају храпавости и добијања одговарајућих параметара површинске храпавости. Вриједност средњег аритметичког

одступања профила (R_a) узима се као највише коришћен параметар који описује стање површине.

Одређивање контактног угла

Хидрофобна односно хидрофилна природа материјала прије и послије модификације је одређена уз помоћ методе контактног угла. Квашићење је мјера привлачности (афинитета) између текућине и површине материјала. Квалитет квашићења одређује се преко ширења капљице по површини материјала. Квалитет квашићења одређује се контактним углом.. Ако је угао $\Theta < 90^\circ$ квашићење површине материјала је добро, док је код угла $\Theta > 90^\circ$ квашићење слабо. Степен квашићења зависи од површинске енергије материјала (напетости површине) и текућине те њиховом интермолекулском привлачењу. У случају високе површинске енергије материјала (метали, керамика) и ниске енергије текућине квашићење је добро. С друге стране, због ниске површинске енергије полимера квашићење на њиховој површини је слабо. Мјерење контактног угла са водом је извршено да се утврди површинска хидрофобност. Мјерења ће бити извршена у гониометру коришћењем дејонизоване воде као тестне течности. Гониометар садржи ЦЦД камеру за снимање слике капљице постављене на површину помоћу микроигле и софтвера за обраду и за одређивање контактног угла. Мјерења ће бити вршена на двије различите позиције за сваки примјерак, а онда израчунат просјек.

Одређивање топлотне проводљивости

Топлотну проводљивост ћемо одређивати са *transient plane source* (TPS) техником. Он обухвата опсег топлотне проводљивости од најмање 0.01-500 W / м / K (у складу са ИСО 22007-2) и може се користити за мјерење разних врста материјала, као што су чврсте супстанце, течност, паста и танких филмова итд. 2008. године одобрен је као ИСО стандард за мјерење топлотних карактеристика полимера (новембар 2008). Овај TPS стандард такође покрива употребу ове методе за испитивање изотропних и анизотропних материјала. Предност ове методе у односу на друге је што се овом методом може измерити и топлотна проводљивост нанокомпозита и узорци могу бити малих димензија. Хот диск сензор се користи за регистровање топлотне проводљивости, он има изглед танке плоче која се састоји од двоструке спирале која је од никла и служи као електрични проводник. Ова спирала је постављена између две танке фолије (Каптон, Мица). Танка Каптон фолија обезбеђује електричну изолацију и механичку стабилност сензора. Сензор се поставља између две половине узорка који се мјери. Током мјерења константни

електрични импулс пролази кроз проводну спиралу, повећавајући температуру сензора. Генерирана топлота се у оба случаја распушта у узорку, у зависности од топлотних карактеристика материјала.

Испитивање биокомпатибилности

Тестови цитотоксичности у *in vitro* условима

У циљу одређивања цитотоксичности новог материјала ПММА/Au, користит ће се директни тестови цитотоксичности. У директним тестовима Л929 ћелије ће се култивисати у плочи са 24 места. Узорци материјала (шестопликати), ће се прво поставити у средину плоче. Након тога ће бити додато 1 x 10⁶ Л929 ћелија по базену, при чему ће укупна површина материјала према запремини медијума износити 2 цм²/мл. Ћелије ће се култивисати 24 сата у инкубатору, након чега ће се измјерити њихова вијабилност и метаболичка активност МТТ тестом. Способност новог материјала ПММА/Au да индукује апоптозу Л929 ћелија (1 x 10⁶ ћелија по базену) ће бити измјерена након 24 сата култивације. Контролне ћелије ће се култивисати са узорком ПММА без додатка наночестица злата.

Триптан плаво тест

Вијабилност ћелија ће бити одређена бојењем у 1% раствору Трипан плавог. Невијабилне ћелије, претежно некротичне, се боје Трипан плавим и анализирају се на свјетлосном микроскопу. Вијабилност ће се одредити на основу броја обојених ћелија у односу на укупан број ћелија, а израчунат ће се као % вијабилности = 100% укупних ћелија - % мртвих ћелија, при чему ће се бројати најмање 500 ћелија по узорку.

Тестови апоптозе

Процент апоптотских ћелија ће бити одређен на основу квантификације ћелија у крајњем стадијуму апоптозе који се карактерише фрагментацијом ДНК и ослобађањем апоптотских тјела. Овакве ћелије имају мању количину ДНК. Након култура са материјалом ћелије ће бити испране у ПБС-у центрифугирањем и ћелијски пелет ће бити ресуспендован у хипотоном раствору (0.1% Na-цитрат, 0.1% Тритон X у дестилованој води) који омогућава пермеабилизацију свих ћелија. У 300 μl ћелијске суспензије ће се додат ПИ (40 μg/ml) и узорци ће се инкубирати 6 сати на собној температури или преко ноћи у фрижидеру. Након инкубације, ћелије ће бити анализиране на проточном цитометру, а ћелије са хиподиплоидним нуклеусом биће идентификоване као апоптотске ћелије.

Испитивање метаболичке активности ћелија МТТ тестом

Метаболичка активност ћелија ће бити процијењена на основу активности сукцинат дехидрогеназе. Наиме, након култура са узорцима , медијум за ћелијске културе ће бити уклоњен, а базени ће бити напуњени са 100 µl 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5 дифенил тетразолијум бромид (МТТ, Сигма, 0.5 mg/ml) у комплетном РПМИ медијуму без фенол црвеног. Као контроле теста биће коришћени базени са тест материјалима без ћелија. У току инкубације од 3-4 сата, сукцинат дехидрогеназа конвертује МТТ у нерастворни формазан који преципитира у току синтезе. У циљу квантификације формазанског преципитата у базене ће бити додат 10% натријум додецил сулфат (СДС) са 0.1N HCl у води, који растворава формазан и ћелијске мембрane. Узорци се инкубуирају преко ноћи на собној температури. Након тога, биће одређена оптичка густина (ОД) раствора на спектрофотометру на 570 nm (референтна 650 nm) таласне дужине. Сви узорци биће рађени у шестопликатима, а резултати ће бити изражени као релативна метаболичка активност у односу на одговарајуће контролне ћелије.

Испитивање генотоксичности микронуклеусним тестом

Ћелијска суспензија биће нанесена на предметно стакалце загријано на 37 °C, а потом фиксирана метанолом (80% в/в) на 4 °C кроз вријеме од 20 минута. Стакалца ће бити бојена 5%- тном отопином Гиемсе у трајању од 10 минута, испрана дестилованим водом и осушена на зраку. Анализират ће се светлосним микроскопом под повећањем 400 x, с тим да ће сваки микронуклеус и остале хроматинске аномалије додатно бити проверени под повећањем од 1000 x.

Испитивање антимикробног дјеловања

Са културе *Enterococcus faecalis* као и *Staphylococcus aureus* стерилним памучним брисом ће се покупити колоније и суспендовати у физиолошки раствор. Припремљену суспензију кратко ћемо промућкati на вортексу, а турбидитет проверити на дензиметру. Додавањем колонија или додавањем физиолошког раствора, према потреби, турбидитет суспензије ће се прилагоди тако да одговара стандарду од 0.5 McF. Тако припремљена суспензија се користи за инокулацију подлога у року од 15 минута. Испитивање осјетљивости на антимикробне дјеловања диск-дифузионом методом за бактерије се изводи на чврстој храњивој подлози Милер-Хинтон агар (MXA). Дебљина подлоге је 4 mm. Припремљена суспензија ће се промућкati на вортексу, у њу умочи стерилан брис, вишак течности ће се оциједити лаганим притиском о зидове епрувете. Почеквши од врха плоче, инокулација

подлоге се врши потезима бриса лијево-десно од ивице до ивице плоче тако да се засије читава површина подлоге. Плочу треба ротирати за 60 степени и поновити потезе брисом, затим још једном ротирати плочу и поновити поступак. Тако се обезбеђује да је бактеријска суспензија равномерно засијана на цијелу површину подлоге и требао би се добити конфлуентан раст. Узорци материја у облику дискова промјера 20 mm × 2 mm ће се среилисати у аутоклаву на 121°C 16 мин. Послије стерилизације контролни узорак (чист ПММА) и узорци са различитим концентрацијама наночестица у ПММА се постављају петријеву посуду у року од 15 минута, постављају се помоћу пинцете која се стерилише жарењем на пламенику за сваки диск. Приликом постављања дискова, сваки лагано притиснути пинцетом како би чврсто адхерирао на површину агара. Затим се инкубирају 24 сата на 37°C. Антибактеријски ефекат ће се процијенити на основу величине пречника зоне инхибиције раста микроорганизама око испитиваног материјала. Добијена вриједност зоне инхибиције ће се изразити у mm. Антифунгална активност биће испитана коришћењем диска дифузионе методе. Подлога коришћена за раст гљивице *Candida albicans* биће Сабоурауд малтозни агар. Узорци материја у облику дискова промјера 20 mm × 2 mm ће се среилисати у аутоклаву на 121°C 16 мин. Послије стерилизације контролни узорак (чист ПММА) и узорци са различитим концентрацијама наночестица у ПММА се постављају у петријеву посуду у року од 15 минута. Они се постављају помоћу пинцете која се стерилише жарењем на пламенику за сваки диск. Приликом постављања дискова, сваки лагано притиснемо пинцетом како би се чврсто адхерирао за површину агара. Затим се инкубирају 48 сати на 25° C. Антифунгални ефекат ће се процијенити на основу величине пречника зоне инхибиције раста микроорганизама око испитиваног материјала.

Испитивање формирања и адхерирања биофилма *Candida albicans*

Candida albicans кој ће бити купљен од АТЦЦ фирмe или друге доступне фирмe, а антифунгални ефекат ће се процијенити путем ФАЦС-а (Флуоресценце активатед цели сортинг) на основу виабилности и китом за бројање односа мртвих и живих ћелија (Молецукар Пробес, Орегон, УСА). Прије контаминације са *Candida albicans*, ПММА/Au узорци ће бити су стерилисани гасом етилен оксида у трајању 24 сата да би се осигурала њихова почетна стериилност. Због имитирања услова у усној дупљи узорци ће 1 сат прије инкубације са *Candidom albicans* бити потопљени у синтетичку пљувачку (Biotene,Oralbalance). Суспензија културе гљиве 1.0 запремина % ће се додати на 1,5 mL медијума затим инокулирати са узорцима који се налазе у плочи од 12 бунара, култивишу се 24 сата на 37 ° C у инкубатору. Узорци ће се затим центрифугирати на

10.000 г у трајању од 3 минута, а затим ће бити опрани и сонификовани са ПБС. Ћелије ће се поново ресуспендовати у 500 μ L ПБС који садржи 0.1 μ L од 3.34 mM CYTO 9 нуклеинске киселине за бојење (за бојење живих и мртвих гљивица) и 0,1 μ L 30 mM пропидиум јодида (ПИ, за специфично бојење мртвих гљивица) и инкубираће се 15 минута на собној температури заштићене од светлости. За коначни корак, додат ћемо 1 μ L суспензије микросфера на обојен узорак ћелије као референтни стандард за волумен узорка а затим ћемо суспензију добро промијешати и анализирати проточном цитометријом. Однос живих и мртвих гљивичних ћелија ће се израчунати помоћу флуоресценце или цитограмом.

Метод и узорак су одговарајући?

ДА

НЕ

IV.9 Мјесто, лабораторија и опрема за експериментални рад

Истраживања ће се обављати у следећим институцијама: Машички факултет у Марибору, Златарна Цеље у Цељу, Шиншу Универзитет Јапан, Стоматолошки факултет у Београду, Институт за примјену нуклеарне енергије у Београду (ИНЕП), Природно-математички факултет у Бањој Луци, Институт за јавно здравство Републике Српске и Медицински факултет у Бањој Луци.

Први дио истраживања ће се обавити у зубно-техничкој лабораторији Медицинског факултета, студијског програма стоматологија, Универзитета у Бањој Луци која је опремљена неопходном опремом за провођење ове активности. Наночестице злата ће се произвести у Златарни Цеље у Цељу, која посједује лаборатрију са неопходном опремом за производњу наночестица злата.

Други дио истраживања који подразумјева карактеризацију узорака TEM и EDX анализом ће се обавити у лабораторијама Машичком факултету у Марибору и на Шиншу Универзитету Јапану, који посједује микроскопе потребне за ове анализе.

Трећи дио истраживања који подразумјева испитивање механичких карактеристика материјала ће се обавити у лабораторијама Машичком факултету у Марибору и Природно-математичког факултета у Бањој Луци, које су опремљене неопходном опремом за провођење ове активности.

Четврти дио истраживања који подразумјева испитивање биокомпатибилности ће се обавити у лабораторији Института за примјену нуклеарне енергије у Београду (ИНЕП), које су опремљене неопходном опремом за провођење ове активности.

Пети дио истраживања који подразумјева испитивање антимикробног дјеловања ће се обавити у лабораторијама Института за јавно здравство Републике Српске, које су

опремљене неопходном опремом за провођење ове активности.

Шести дио који подразумјева испитивање формирања и адхерирања биофилма ће се обавити у лабораторијама Стоматолошког факултет у Београду, које су опремљене неопходном опремом за провођење ове активности.

Услови за експериментали рад су одговарајући? ДА НЕ

IV.10 Методе обраде података

Статистичком анализом били би обухваћени сви параметри укључени лабораторијским истраживањем. Избор теста за анализу обиљежја посматрања зависиће од природе расподјеле података. У случају нормалне расподјеле података користит ће се једнофакторска анализа варијансе и Bonferroni тест за анализу разлике између групе и распона различитих од нормалних користит ће се Kruskal Wallis тест а за међугрупну анализу Mann Whetney U тест. Границна вриједност за прихватање радне хипотезе постављена је на $p < 0.05$.

Предложене методе су одговарајући? ДА НЕ

V ЗАКЉУЧАК

Кандидат је подобан	<u>ДА</u>	<u>НЕ</u>
Тема је подобна	<u>ДА</u>	<u>НЕ</u>

ПРИЈЕДЛОГ СА ОБРАЗЛОЖЕНОМ ОЦЈЕНОМ О ПОДОБНОСТИ ТЕМЕ И КАНДИДАТА

Приједлог теме докторске тезе мр сц. др стом Тијане Адамовић под називом „Наночестице злата у саставу полиметилметакрилатних протеза као превентивна мјера од настанка оралних инфекција“ задовољава све критеријуме за пријаву докторске тезе. Чланови комисије упућују позитивну оцјену Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и са задовољством предлажу да се ова позитивна оцјена прихвати и одобри тема, те покрене даљи поступак израде докторске тезе мр сц. др стом Тијане Адамовић.

Датум: Март. 2019

Проф. др Смиљка Џицмил

Ужа научна област Стоматологија, орална хирургија и медицина, Медицински факултет у Фочи,

Универзитет у Источном Сарајеву

Предсједник комисије

prof. dr sc. stom.

Smiljka L. Cicmil
spec. parodontologije i oralne medicine

Доц. др Жељка Којић

Ужа научна област Пародонтологија и
орална медицина, Медицински факултет,
Универзитета у Бањој Луци

Zeljko Kojic
Doc. dr stom. Željka Kojić
Члан
SPEC. PARODONTOLOGIJE I
ORALNE MEDICINE

Доц. др Валентина Веселиновић

Ужа научна област Стоматолошка
протетика, Медицински факултет,
Универзитета у Бањој

Луци

Doc. dr Valentina Veselinovic
Члан
SPECIJALISTA STOMATOLOŠKE PROTETIKE

Valentina Veselinovic