

УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊОЈ ЛУЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ:



УНИВЕРЗИТЕТ У БАЊА ЛУЦИ
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ БАЊА ЛУКА

Образац - 3

Примљено:	12.3.2020.	
Орг. јед.	Број	Прилог
18	14.9/20	

ИЗВЈЕШТАЈ
о оијени урађене докторске дисертације

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ

Наставно-научно вијеће Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци, на сједници одржаној 24.02.2020. године, донијело је одлуку број: 18/3.184/2020. о именовању Комисије за оцјену и одбрану урађене докторске дисертације мр сц. Рената Јосиповић под називом. „Физичка својства новосинтетисаних наноматеријала калцијум алуминатних система“:

Именована је комисија у сљедећем 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 Бранислав Глишић

Звање: редовни професор

Ужа научна област: Ортопедија вилица

Институција: Универзитет у Београду, Стоматолошки факултет, коментор и члан

3. Члан:

Доц. др Жељка Којић

Звање: доцент

Ужа научна област: Пародонтологија и орална медицина

Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, студијски програм стоматологија, члан.

4. Резервни члан:

Проф. др Оливера Долић

Звање: Ванредни професор

Ужа научна област: Дјечија и превентивна стоматологија

Институција: Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, резервни члан

Након детаљног прегледа урађене докторске дисертације кандидата мр сц. Ренате Јосиповић чланови Комисије подносе Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци сљедећи извјештај:

II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ

Рената (Владо) Јосиповић

Рођена 07.11.1979. године у Сиску, Хрватска.

Универзитет у Бањој Луци, Медицински факултет, Студијски програм стоматологија, кандидаткиња је завршила 2006. године са просјечном оцјеном 8,2, те стекла звање доктора стоматологије. У току студија радила је као демонстратор на Катедри за болести зуба.

Постдипломски студиј је завршила на Медицинском факултету у Бањој Луци са просјечном оцјеном 9,45. Магистарски рад под називом „Испитивање ивичног микропропуштања директних композитних фасета“ одбранила је 02.07.2014. године на Медицинском факултету, Универзитета у Бањој Луци и тиме стекла звање магистра стоматолошких наука из области Болести зуба.

III УВОДНИ ДИО ОЦЛЕНЕ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Наслов докторске дисертације мр сц. Ренате Јосиповић је:

„Физичка својства новосинтетисаних наноматеријала калцијум алуминатних система“:

Тема докторске дисертације је прихваћена од стране Наставно-научног вијећа Медицинског факултета, Универзитета у Бањој Луци **Одлуком број: 18/3.226/2016 од 23.03.2016.** године

Сенат Универзитета у Бањој Луци Одлуком број: 02/04-3.1589-89/16 од 23.06.2016. године дао је сагласност на Извештај о оцјени услова и подобности теме за израду докторске дисертације на Медицинском факултету у Бањој Луци кандидаткиње мр Ренате Јосиповић под називом. „Физичка својства новосинтетисаних наноматеријала калцијум алуминатних система“:

Садржај докторске дисертације је изложен у следећим поглављима:

- 1) Увод (стр. 1-31),
- 2) Хипотеза (стр. 32),
- 3) Циљ рада (стр. 33),
- 4) Материјал и методе (стр. 34-49),
- 5) Резултати истраживања (стр. 50-83),
- 6) Дискусија (стр. 84-107),
- 7) Закључак (стр. 108-109) и
- 8) Литература (стр. 110-132).

Докторска дисертација је написана латиничним писмом, фонтом *Times New Roman*, величина 12. Дисертација је написана на укупно 132 странице, формата А4. На почетку дисертације налази се 7 страна које нису нумерисане, а односе се на наслов дисертације, резиме (на српском и на енглеском језику), захвалници и 3 стране на садржај докторске дисертације. Дисертација садржи 10 табела и 45 слика. Укупан фонд кориштене литературе чини 268 литерарна извора.

У првој целини (стр.1-31) истакнут је разлог због којег је ово истраживање предузето, употребом нанотехнологије могу се побољшати особине материјала и превазићи недостатке приликом синтетисања материјала у циљу очувања добрих биолошких и унапређењу физичких карактеристика. Стога су актуелна страживања са циљем да се пронађе материјал који ће имати задовољавајуће физичке особине и

одговарајућу биокомпабилност.

Укратко је представљен предмет истраживања и истакнут значај биокомпабилности, односно биоиндуктивности материјала, као и физичке карактеристике материјала. Указано је на значај калцијум алуминатних цемената од њиховог појављивања па до данас, предности ових материјала и примјену у медицини и различитим областима стоматологије.

Такође, истакнуто је да упркос томе што је последњих десетак година нешто већи акценат стављен на истраживања калцијум алуминатних цемената, шира примјена ових материјала у стоматолошкој пракси захтијева додатна испитивања новијег датума.

У другој целини (стр.32) представљена је хипотеза спроведеног истраживања која указује да су физичка својства наноматеријала на бази калцијум калцијум алумината компарабилна са комерцијалним материјалним (минерал триоксид агрегат и материјал на бази калцијум силиката), као и да посједују биокомпабилна својства и поспјешују репараторне процесе пулног ткива.

Циљеви истраживања су дати у **трећој целини** (стр.33). Циљеви истраживања су прецизно постављени како би се испитала физичка и биолошка својства наноструктурних биоматеријала на бази калцијум алумината. Од физичких својстава испитивана је растворљивост и порозност материјала, pH вриједност материјала у различитим временским интервалима и маргиналана пропустљивост материјала на бази калцијум алумината након апликације у интрарадиксне перфорације екстрахованих зуба. Од биолошких својстава испитивана је биокомпабилност материјала на бази калцијум алумината у „ин виво“ условима на анималном моделу након директног прекривања експониране пулпе.

У четвртој целини (стр.34-48) представљена је основна методологија истраживања. У оквиру овог дијела детаљно је описан процес синтезе нових наноматеријала калцијум алуминатних система. У дијелу који се бави испитивањем физичких својстава наноструктурних биоматеријала на бази калцијум алуминатних материјала описан је поступак испитивања растворљивости и порозности материјала, pH вриједност материјала у различитим временским интервалима и маргиналана пропустљивост материјала на бази калцијум алумината након апликације у интрарадиксне перфорације екстрахованих зуба. У дијелу који се бави испитивањем биолошких својстава тестирања материјала након директног прекривања пулпе на анималном моделу детаљно је описана матедологија приликом испитивања биолошких својстава

Резултати истраживања и тестирање хипотезе чине садржај **пете целине** (стр. 50-83). У оквиру овог дијела дисертације, систематично су приказани резултати по фазама истраживања. Детаљно су приказани резултати испитивања физичких и биолошких карактеристика тестирања материјала.

Шеста целина у овој докторској дисертацији (стр. 84-107) представљена је дискусијом добијених резултата истраживања и њиховом компарадијом са већ постојећим сличним истраживањима у овој научној области. Представљени су и образложени доприноси овог рада биокомпабилности новосинтетисаних калцијум алумината.

У седмој целини (стр. 108-109) 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 целина (стр.110-132) 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 јасно су и логичким редослиједом описаны основни појмови о *проблему* који се истражује, почев од појаве калцијум алуминатних система почетком 20. вијека па све до истраживања нових калцијум алумината заснованих на нанотехнологијама. Употребом нанаотехнологије могуће је превазићи недостатке досадашњих материјала, односно очувати добре биолошке и унаприједити физичке карактеристике. Нанотехнологијом ногу се побољшати особине материјала, смањити њихова маса, повећати стабилност и унаприједити њихова функционалност. С обзиром на све већу примјену наноматеријала у медицини, као и све учесталију употребу калцијум алумината у рестауративној стоматологији и ендодонцији неопходно је трагати за новосинтетисаним наноструктурним биоматеријалима на бази калцијум алумината, што представља и *разлог* због којег је истраживање предузето.

Основни циљ истраживања је био:

Испитати физичка и биолошка својства наноструктурних биоматеријала на бази калцијум алумината у ин витро и ин виво условима.

Ближи циљеви истраживања су били:

1. Испитати растворљивост и порозност материјала на бази калцијум алумината
2. Испитати pH вриједност материјала на бази калцијум алумината у различitim временским интервалима
3. Испитати маргиналну пропуствљивост материјала на бази калцијум алумината након апликације у интеррадиксне перфорације екстравазованих зуба
4. Испитати биокомпактибилност материјала на бази калцијум алумината у ин виво условима, на анималном моделу, након директног прекривања експониране пулпе.

На основу проблема, предмета и циљева истраживања, као и резултата претходних сличних истраживања, постављена је *хипотеза истраживања* која гласи:

1. Физичка својства експерименталних наноструктурних биоматеријала на бази калцијум алумината су компарабилна са својствима комерцијалних материјала (MTA) и материјала на бази калцијум силиката.
2. Експериментални наноструктурни биоматеријали на бази калцијум алумината посједују биокомпактибилна својства и поспјешују репараторне процесе пулпног ткива.

IV 2. Преглед претходних истраживања

Преглед релевантне литературе даје ширу слику теме докторске дисертације.

Биоактивност или биокомпактибилност је способност материјала да изазове одговарајући биолошки одговор у живом ткиву. Особине које треба да посједује идеалан биоактивни материјал су: да дјелује бактерицидно или бактериостатски, да помаже у формирању репараторног дентина и одржавању виталитета пулпе.

MTA је биокомпактибилан материјал и способан да астимулише остеогенезу. [1]. Међутим, MTA посједује и неке лоше особине међу којима је најзначајније дugo вријеме везивања, које је посљедица хемијског састава и отежана клиничка манипулација, односно, ниска отпорност на компресију и висока растворљивост у влажној средини. Дugo вријеме везивања ниси ризик од испирања материјала са мјеста апликације, с обзиром да се поставља у кавитете који могу бити

контаминирани крвљу и другим ткивним флуидима [2]

Стога су истраживања са циљем да се пронађе материјал који ће имати побољшане физичке особине и одговарајућу биокомпактибилност, али са краћим временом везивања у односу на МТА, веома актуелна. [3].

У оквиру почетног дијела прегледа литературе приказане су релевантне и актуелне референце које указују да је примјеном нанотехнологије могуће превазићи поменуте недостатке приликом синтетисања нових материјала [4].

Нанотехнологија се може описати као наука, али и инжењерство, односно, процес производње укључен у дизајн, синтезу, карактеризацију и апликацију материјала чија се најмања функционална организација налази у нанометарској скали [5,6].

Материјали на базикалцијум алумината потврдили су сличне или супериорније физичке и биолошке карактеристике у односу на материјале на бази калцијум силиката. Гарсиа и сарадници су анализирали растворљивост и порозност материјала на бази калцијум алумината са три различита рентген контрастна средства (Bi_2O_3 , ZnO , ZrO_2) у поређењу са МТА. Без обзира на рентген контрасно сретство, материјала на бази калцијум алумината је показао слично понашање као и МТА [7].

Према Оливеири и сар. нови цементи на бази калцијум алумината показују побољшане хемијске, физичке и механичке особине у односу на МТА, у смислу краћег времена везивања боље флуидности, јачемеханичке снаге и редуковане порозности, као и побољшаних карактеристика руковања. [8-10]. Гарсиа и сар. су испитивали механичке и микроструктурне карактеристике новог материјала на бази калцијум алумината за ендодонтску апликацију у конпарацији са МТА. Где су материјали на бази калцијум алумината показали боље физичке особине, односно већу компресивну снагу него МТА након 7. и 21. дана, као и већу затезну чврстоћу. У истој студији СЕМ анализом утврдили су кристализирану структуру са хомогеним честицама унiformне дистрибуције [11].

Силва и сарадници у свом истраживању закључили су да је ендодонтски материјал на бази калцијум алуминатног цемента показао погодна биолошка и физико-хемијска својства, те да се може користити као материјал избора код корјенских перфорација, ресорпција корјена, као и код пуњења канала корјена зуба. Истраживачи су анализирали растворљивост и сорпцију течности материјала на бази калцијум алумината упоређујући га са МТА, при чему је материјала на бази калцијум алумината показао мањи губитак масе у односу на МТА. [12].

Пирес-де-Соуса и сарадници анализали су pH вриједност, ослобађање калцијумових јона и антимикробну активност материјала на бази калцијум алумината (EndoBinder) који је у свом саставу садржавао различита рендген контрастна средства и поредили их са МТА. EndoBinder је у наведеном испитивању презентовао сличне перформансе као и МТА, без обзира на рендген контрастно средство. Почетна вриједност pH код МТА била је виша него за материјал на бази калцијум алумината [13]. Памејер и сарадници су анализирали рубно затварање, односно, бактеријско микропропуштање калцијум алуминатног цемента у комбинацији са глас јономером (XeraCem) и упоређивали га са два комерцијално доступна цемента на бази глас јономера. Резултати наведеног истраживања у обзетивационом периоду од 60 дана су показали да је бактеријско микропропуштање XeraCem било задовољавајуће и компарабилно са комерцијалним материјалима. Истраживачи су заакључили да калцијум алуминатна компонента доводи до побољшања механичких особина и утиче на дугорочну хемијску стабилност материјала [14].

Поједини истраживачи су процењену биокомпактибилност калцијум алумината вршили у условима ин виво, на експерименталним животињама. 2017. године Радовић и сарадници у својој студији, испитујући биокомпактибилност и

биоиндуктивност материјала на бази калцијум алумината, потврдили су повољан терапијски ефекат код директног прекривања пулпе на експерименталним животињама. [15].

Студија Волша и сарадника (2018) се бавила испитивањем дентиногеног, односно, остеогеног потенцијала материјала калцијум алуминосиликатног цемента (Quick-Set) и MTA, након пулпотомије код паса. Анализирани су хистолошки параметри и то: квалитет и дебљина дентинског моста, инфламација, формација цермента и периодонталних лигамената, као и одговор пулпног ткива. Резултати су показали да је након 90 дана калцијум алуминосиликатни цемент остварио сличан ефекат као и MTA. [16]. Сличну студију спровели су Вудмансеј и сарадници где су упоређивали ефекте алуминосиликатног цемента и MTA на ткиво пулпе као одговор на пулпомомију код паса. Резултати хистолошке анализе су показали да није било статистички значајне разлике у формирању репаративног дентина и квалитету дентиногенезе између тестиралих материјалаа. Инфламација код калцијум алуминосиликатног цемента је била нешто изражажнија у односу на MTA. [17].

Студија „ин виво“ Крамер и сарадника је утврдила присуство дентинског моста, односно, дентинску регенерацију код зуба пацова примјеном калцијум алуминосиликатног материјала (Quick-Set) 30 и 60 дана након пулпотомије. Quick-Set је показао сличне особине као калцијум силикатни цементи. Репаративни дентин забиљежен код зуба пацова показао се идентичним као код хуманих зуба. Сви тестирали материјали у наведеној студији имали су сличан инфламаторни одговор као и слично дентинско премошћавање перфорационог отвора пулпе зуба пацова. [18]. Кохоут и сар. су указали на сличан ефекат Quick-Set цемента и MTA на зарастање периапикалног ткива, односно, на формирање периодонталних лигамената након апикотомије и пуњења 42 мандибуларна премолара са наведеним материјалима код 7 паса. Оба материјала су показала регенерацију периапикалног ткива. [19]. Агуилар и сар. су анализирали биокомпабилност материјала на бази калцијум алумината пласирајући га у потложно ткиво пацова. 15 пацова је подијељено у три групе од по 5 узорака. По двије полиетиленске тубице напуњенетестираним материјалима (EndoBinder i MTA) су пласиране у дорзалном поткојном ткиву. Након 7,21 и 42 дана животиње су жртвоване. Цементи на бази калцијум алумината након 42 дана показали су одсуство инфламаторне реакције, док је код MTA забиљежена блага инфламаторна реакција, чиме је доказана биокомпабилност материјала [20].

Литература цитирана у IV 2.

- [1] Parirokh M, Torabinejad M. Mineral trioxide aggregate: A comprehensive literature review-Part I: Chemical, physical and antibacterial properties. *J Endod* 2010;36(1):16-27
- [2] Gandolfi MG, Lacono F, Agee K, Siboni F, Tay F, Pashley DH, Prati C. Setting time and expansion in different soaking media of experimental accelerated calcium-silicate cements and ProRoot MTA. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009; 108(6):39-45
- [3] Asgary S, Shahabi S, Jafarzadeh T, Amini S, Kheirieh S. The properties of a New Endodontic Material. *J Endod* 2008;34:990-993
- [4] Gupta J. Nanotechnology applications in medicine and dentistry. *J Investig Clin Dent*. 2011; 2:81-8
- [5] Sahoo SK, Parveen S, Panda JJ. The present and future of nanotechnology in human health care. *Nanomed Nanotechnol Biol Med*. 2007; 3:20-31
- [6] Jandt KD, Sigusch BW. Future perspectives of resin-based dental materials. *Dent Mater*. 2009; 25:1001-6.
- [7] Garcia Lda F, Chinelatti MA, Rossetto HL, Pires-de-Souza Fde C. Solubility and disintegration of new calcium aluminate cement (EndoBinder) containing different radiopacifying agents. *J Endod* 2014;40:261–5

- [8] Oliveira IR, Pandolfelli VC and Jacobovitz M. Chemical, physical and mechanical properties of a novel calcium aluminate endodontic cement. International Endodontic Journal. 2010; 43(12):1069-1076.
- [9] Oliveira IR, Andrade TL, Jacobovitz M and Pandolfelli VC. Bioactivity of calcium aluminate endodontic cement. Journal of Endodontics. 2013; 39(6):774-778
- [10] Oliveira IR, Andrade TL, Araujo KCML, Luz AP, Pandolfelli VC. Hydroxyapatite synthesis and the benefits of its blend with calcium aluminate cement Ceramics International 2016;42(2), 2542–2549
- [11] Garcia LFR, Aguilar FG, Sabino MG, Rosseto HL, Piresde- Souza, FCP. Mechanical and microstructural characterisation of new calcium aluminate cement (EndoBinder). Adv Appl Ceram. 2011;110(8): 469-475
- [12] Silva EJNL, Herrera DR, Rosa TP, Duque TM, Jancinto RC, Gomes BPFA, Zaia AA. Evaluation of cytotoxicity, antimicrobial activity and physicochemical properties of a calcium aluminate-based endodontic material. J Appl Oral Sci. 2014;22(1):61-7
- [13] Pires-de-Souza FC, Moraes PC, Garcia LFR, Aguilar FG, Watanabe E. Evaluation of pH, calcium ion release and antimicrobial activity of a new calcium aluminate cement. Braz Oral Res., (São Paulo) 2013 Jul-Aug;27(4):324-30
- [14] Pameijer CH, Zmener O, Serrano SA, Godoy FG. Sealing properties of a calcium aluminate luting agent. Amer jour of dent. 2010;23(2):121-4.
- [15] Radović I, Davidović L, Stojanović N, Ćuk M, Tivković S, Jokanović V. Direct pulp capping with novel nanostructural material based on calcium aluminate cement. The Book of Abstracts. Rosov Pin Belgrade. 2017;93
- [16] Walsh RM, Woodmansey KF, He J, Svoboda KK, Primus CM, Opperman LA Histology of NeoMTA Plus and Quick-Set2 in Contact with Pulp and Periradicular Tissues in a Canine Model. J Endod 2018; 44(9):1389-1395
- [17] Woodmansey KF, Kohout GD, Primus CM, et al. Histologic assessment of Quick-Set and mineral trioxide aggregate pulpotomies in a canine model. J Endod 2015;41:1626–30
- [18] Kramer PR, Woodmansey KF, White R, Primus CM, Opperman LA. Capping a Pulpotomy with Calcium Aluminosilicate Cement: Comparison to MineralTrioxide Aggregates. J Endod. 2014;40(9): 1429–1434
- [19] Kohout GD, He J, Primus C, et al. Comparison of Quick-Set and MTA root-end fillings for the regeneration of apical tissues in dogs. J Endod 2014;41:248–52.
- [20] Aguilar F, Roberti Garcia L, Panzeri Pires-de-Souza: Biocompatibility of new calcium aluminate cement (EndoBinder).;J Endod. 2012;38(3):367-71.

IV 3. Допринос тезе у решавању изучаваног предмета истраживања

Нанотехнологија је све присутнија на пољу медицинске дијагностике и лијечења, укључујући и стоматологију. Примјеном нанотехнологије могу се побољшати особине материјала, смањити њихова маса и повећати стабилност. Истраживања на пољу наноматеријала требало би да потврде њихове предности и убрзају њихову примјену у свакодневној стоматолошкој пракси. Наноматеријали представљају будућност и прекретницу у лијечењу, нарочито кад су у питању ткивни инжињеринг и регенеративна медицина. Новосинтетисани материјали добијени посебним методама синтезе као што је хидротермална сол гел метода и метода самосагорјевајућих таласа имају додатну вриједност, јер су биоактивни и имају боље физичке карактеристике у односу на материјале прозведене другим методама синтетисања. Испитивање физичких и биолошких карактеристика новосинтетисаних наноструктурних биоматеријала на бази калцијум алуминатних система пружају јаснију слику о њиховој ткивној подношљивости и утицају ових материјала на зубну пулпу, односно о њиховој стабилности и дуготрајности на мјесту њихове апликације. Резултати mr. dr Ренате Јосиповић добијени у овој докторској дисертацији доприносе и охрабрују да се наставе истраживања овог материјала у

будућности другим експерименталним и клиничким студијама и отварају пут потенцијалној клиничкој примјени новосинтетисаних наноматеријала базираних на калцијум алуминатима у различитим областима стоматологије.

IV 4. Научни и прагматични допринос дисертације

Калцијум алуминатни цемент ($\text{CaO} \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 + \text{CaCO}_3 + \text{Bi}_2\text{O}_3$), који је испитиван у овој докторској тези, је мјешавина названа *ALBO-MCCA* синтетисана у Институту за нуклеарне науке Винча. До сада није публикован рад који се бави испитивањем физичких карактеристика новосинтетисанихnanoструктурних калцијум алумината произведених хидротермалном сол гел методом и методом самосагорјевајућих таласа. Мало је публикованих радова који анализирају биолошке карактеристике ових материјала. С овим је дат значајан научни допринос дисертације у истраживању новосинтетисаних калцијум алумината и ширењу већ постојећих знања о калцијум алуминатима. Прагматични допринос дисертације подразумијева унапређење протокола директног прекривања пулпе зуба примјеном калцијум алумината.

V МАТЕРИЈАЛ И МЕТОД РАДА

V 1.Материјал и критеријуми

Материјал и методе рада који су коришћени у овој дисертацији су усклађени са постављеним циљевима. У дијелу истраживања који се односи на испитивање физичких својстава nanoструктурних биоматеријала на бази калцијум алуминтаних система (ин витро студија), детаљно је описана припрема узорака као и сви експериментални поступци. Јасно је описан поступак испитивања растворљивости и порозности примјеном стандардних тестова, мјерењем промјена у маси материјала након чувања у дестилованој и дејонизујућој води, као и испитивање pH вриједности тестирању материјала. Описан је поступак испитивања маргиналне микропропустљивости примјеном теста пасивног продора боје, након апликације материјала у експериментално препарисане интеррадиксне фуркације екстрахованих зуба. У дијелу истраживања који се односи на испитивање биолошких својстава nanoструктурних биоматеријала на бази калцијум алуминтаних система (ин виво студија) након директног прекривања пулпе зуба за анимални модел су одабране овце расе Виртенберг, због сличности са хуманим зубима. Истраживање је обављено на Институту за хирургију Ветеринарског факултета у Београду. Животиње су старости 24 мјесеца, а просјечна тјелесна тежина им је износила око 65 кг. Током експеримента животиње су смјештене у простору за експерименталне животиње на Ветеринарском факултету, Универзитета у Београду, у контролисаној средини са контролисаном исхраном уз свакодневну професионалну његу.

V 2. Кратак увид у метод истраживања

У ин витро студији материјал на бази калцијум алуминита је замјешан са дестилованим водом у односу 3:1, контролни материјали (минерал триоксид агрегат-МТАи материјал на бази калцијум силикатна) су замјешани по упуству производића. Тестирали материјали су затим постављени у калупе пречника $5 \pm 0,1$ мм и висине $2 \pm 0,1$ мм. Након везивања материјали су остављени у инкубатору на 37°C током 24 часе. Након чега су материјали извађени из калупа и измјерени на вагици (Acculab, Sartorius group, Getingen, Germany) са прецизношћу од 0,0001 g. Сваки узорак посебно је постављен у пластичне контејнере са 5 мл дестиловане и дејонизујуће воде. Узорци материјала су чувани у затвореним пластичним контејнерима и инкубирани на 37°C током 28 дана. Мјерена је промјена масе узорака након 1,7,14,21 и 28 дана од потапања у течност. За сваки узорак тестираног материјала израчунато је бубрење материјала, сорпција течности, растворљивост и порозност према

стандартним формулама. У истом временском периоду је анализирана и pH вриједност. У другом дијелу испитивања физичких својстава материјала анализирана је маргиналана микропропустљивост на 48 хуманих максиларних и мандибуларних молара. Формирани су приступни кавитети и извршена препарација и оптурација канала корјена моноконом техником. Зуби су затим чувани у инкубатору 7 дана. Након инкубације узорака, извршена је перфорација пода коморе пулпе између корјенова (интеррадиксна перфорација). Интеррадиксне перфорације суиспране са дестилованом водом и затворене тестираним материјалима. По везивању материјала кавитети су дефинитивно затворени композитом. Зуби су чувани у сунђеру натопљеном са дестилованом водом и инкубирани на 37°C наредних 6 мјесеци. Након 6 мјесеци извршено је мјерење микропропустљивости. Сви узорци су потопљени у раствор сребро нитрата (AgNO_3) током 2 часа, потом испирани у фоторазвијачу током 6 часова. Извршено је лонгитудинално пресјецање зуба кроз саму перфорацију дијамантним диском, линеарном тестером са воденим хлађењем (Isomet testera 4000, Buehler, Lake Bluff, IL, USA). Бинокмуларном лупом анализирана је дубина продора боје.

У ин виво студији извршено је директно прекривање пулпе на зубима оваца. Прије експеримента животиње су уведене у општу анестезију и извршена је седација Ксилазином (2% Xylazin, CP, Pharma, Bergdorf, Germany) у дози од 0,2 мг/кг тјесене тежине, интрамускуларном ињекцијом. Општа анестезија одрађена је интравенски кетамин хидрохлоридом 10% у дози од 7,5 мг/кг тјесене тежине. Након увођења у општу анестезију извршена је препарација кавитета V класе у гингивалној трећини вестибуларне површине зуба на доњим сјекутићима животиње, затим трепанација кавума пулпе оштротом сондом. Експонирана пулпа је директно прекривена тестираним материјалима (материјал на бази калцијум алумината, материјала на бази калцијум силиката и МТА). Кавитети су дефинитивно рестаурисани глас јономер цементом (FUJI VIII, GC Corporation, Tokyo, Japan). Након опсервационог периода од 30 дана, животиње су еутанизиране продуженом анестезијом кетамином и.в. и калијум хлоридом интракардијално, а зуби са околним ткивом даљом процедуром припремљени за хистолошку анализу. Од хистолошких параметара анализирани су: континуитет стварања дентинског мостића, морфолошка реорганизација пулпног ткива и инфламаторна реакција пулпе. Сви испитивани параметри пружају довољно елемената који чине ово истраживање квалитетним.

Статистичка обрада података је била адекватна. За статистичку анализу добијених резултата растворљивости и порозности добијени резултати су статистички обрађени примјењујући Студент Т-тест разлике између аритметичких средина два мала назависна узорка. У анализи pH вриједности разултати су статистички обрађени примјењујући двофакторску анализу варијансе за поновљена мјерења Сидаковим тестом. Од података прикупљених клиничким истраживањем формирана је датотека у статистичком програму СПСС 20 уз помоћ кога су и анализирани. Од дескриптивних статистичких метода коришћени су мјере централне тенденције и мјере варијабилитета. Од аналитичких статистичких метода кориштена је једнофакторска анализа варијансе и двофакторска аналза варијансе за поновљена мјерења (Хи-квадрат егзакини тест). Резултати су приказани табеларно и на сликама. Анализирајући обрађени материјал, описане методе и материјал истраживања, а имајући у виду досадашња искуства и достигнућа у овој области комисија констатује да су примјењене методе адекватне а испитивани параметри довољно обрађени и објективно тумачени.

VI РЕЗУЛТАТИ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

VI 1. Резултати истраживања

Добијени резултати ове докторске дисертације приказани су на 33 странице, а анализирани су кроз дискусију на 23 странице. Код испитивања физичких својстава материјала, просјечне вриједности бubreња материјала на бази калцијум алумината у свим временским интервалима (након 1,7,14,21 и 28 дана) су биле негативне, што значи да је дошло до дезинтеграције материјала. МТА и калцијум силикати показали су сличне вриједности бubreња аматеријала. Најмања сорпција течности 28 дана након складиштења узорака у дестиловану и дејонизујућу воду, забиљежена је код МТА-а ($0,347 \text{ mg/mm}^3$), потом код калцијум силиката ($0,357 \text{ mg/mm}^3$), док је највећа сорпција забиљежена код калцијум алумината ($0,474 \text{ mg/mm}^3$). Најмања растворљивост материјала забиљежена је код МТА-а ($0,255 \text{ mg/mm}^3$), затим код калцијум силиката ($0,267 \text{ mg/mm}^3$), највећа растворљивост уочена је код калцијум алумината ($0,725 \text{ mg/mm}^3$). Резултати растворљивости и порозносзи изражене су и у процентима, где је примјеном Студентовог T- теста забиљежена статистички значајна разлика између калцијум алумината и МТА и између калцијум алумината и калцијум силиката, док између калцијум силиката и МТА разлика није била статистички значајна. Степен порозности у овом истраживању за МТА износио је 3,09%, за калцијум силикате 2,78%, док су материјали на бази калцијум алумината показали порозност у негативној скали од 8,204. Код свих узорака тестиралих материјала забиљежене су алкалне вриједности pH, са тенденцијом опадања у функцији времена. Код тестирања микропропустљивости најмањи просјечан прород боје био је за МТА ($1,40 \pm 0,63\text{mm}$), а највећи за калцијум алуминате ($2,10 \pm 0,63\text{mm}$), док је за калцијум силикате забиљежен просјечана прород боје од $1,73 \pm 0,67\text{mm}$. Кандидаткиња је логички и јасно продискутовала резултате ове фазе истраживања, те их упоредила са сличним истраживањима која су рађена до данас.

Код испитивања биолошких својстава материјала, резултати анализа присуства дентинског моста након директног прекривања експониране пулпе тестиралима су показали да је дошло до формирања комплетног дентинског моста у 62,5% узорака, док је формирање инкомплетног дентинског мостића регистровано код 37,5% узорака. Статистички значајне разлике у формирању дентинског моста између тестиралих материјала, није било. Код анализе морфолошке реорганизације пулпног ткива након директног прекривања пулпе тестиралима, присуство ћелија случних одонтобластима регистровано је у свим случајевима прекривања са материјалима на бази калцијум силиката и МТА и у 90% случајева код прекривања пулпе са материјалима на бази калцијум алумината. Нормално пулпно ткиво уочено је у 10% узорака прекривених калцијум алуминатима. Потпуна дезорганизација пулпног ткива и некроза пулпе није забиљежена нити у једном узорку. Резултати анализе инфламаторне реакције пулпе након експерименталног периода од 30 дана, показали су да је код свих зуба (узорака) забиљежена блага инфламаторна реакција пулпе и присуство ћелија запаљења само на мјесту експониране пулпе.

На основу добијених резултата анализе физичких и биолошких својстава материјала кандидаткиња је извела сљедеће закључке:

-Највећа растворљивост забиљежена је код материјала на бази калцијум алумината, а најмања код МТА. Растворљивост материјала на бази калцијум силиката је значајно мања у односу на материјал на бази калцијум алумината.

- Код материјала на бази калцијум алумината уочена је порозност у негативној скали, односно, дезинтеграција материјала. Порозност материјала на бази калцијум алумината се није показала компарабилном са МТА и материјалом на бази калцијум

силиката.

- Резултати pH вриједности калцијум алумината показали су високе (алкалне) вриједности са тенденцијом опадања у функцији времена, што је компарабилно са МТА-ом и материјалом на бази калцијум силиката.
- Најизраженија микропропустиљивост уочена је код материјала на бази калцијум алумината, потом код калцијум силиката, а анајмања код МТА.
- Након директног прекривања пулпе материјалом на бази калцијум алумината забиљежено је стварање комплетног дентинског моста.
- Након директног прекривања пулпе материјалом на бази калцијум алумината регистровано је присуство ћелија сличних одонтобластима, хиперактивност одонтобласта и нормалан изглед централног дијела пулпе.
- Након директног прекривања сви тестирали материјали су показали благу инфламаторну реакцију и присуство ћелија запаљења само на мјесту експонирање пулпе.
- Сви тестирали материјали при директним контактима са пулпним ткивом су показали биокомпатибилност и биоиндуктивни потенцијал тј. индукцију стварања дентинског моста и испољавању репараторне активности.

На основу резултата ове докторске дисертације може се закључити да је материјал на бази калцијум алумината показао нешто слабија физичка својства у односу на МТА и калцијум силикате. Међутим, повољан биолошки одговор ткива након апликације експерименталног наноструктурног биоматеријала на бази калцијум алумината у овој студији представља добру основу за његова даља клиничка истраживања и евентуалне модификације у саставу у циљу побољшања физичких карактеристика.

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 показује 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:

Ова докторска дисертација проширује постојећа знања о цементима на бази калцијум алумината.

Основни практични допринос дисертације је следећи:

Ова докторска дисертација значајан и оригиналан научни допринос у истраживањима наноструктурних биоматеријала расvjетљавању проблематике везане за утицај хемијског састава, структуре и начина синтезе на физичка и биолошка својства биоматеријала. Изабраном научном методом дат је ближи увид у физичка и биолошка својства нових наноструктурних биоматеријала. Очекује се да ће резултати ове студије бити употребљени за унапријеђење протокола директног прекривања пулпе зуба.

Основни правци даљих истраживања:

Резултати ове дисертације, дају одговоре на постављени проблем истраживања, или и указују на наредне правце истраживања. Наноструктурни биоматеријали засновани на калцијум алуминатним системима су показали слабија физичка својства и потврдили биокомпатибилност приликом директног прекривања пулпе, или свакако је препорука да се добијени резултати провере и у неким будућим клиничким студијама.

VII ЗАКЉУЧАК И ПРИЈЕДЛОГ

Докторска дисертација мр сц. Ренате Јосиповић под називом „*Физичка својства новосинтетисаних наноматеријала калцијум алуминатних система*“ израђена је у складу са образложењем које је кандидат приложио приликом пријаве теме. Докторска дисертација је урађена према правилима и принципима научно-истраживачког рада и резултат је оригиналног научног рада кандидата. Резултати добијени испитивањем физичких карактеристика новосинтетисаних наноструктурних материјала на бази калцијум алумината су показали нешто слабија физичка својствау односу на МТА и калцијум силикате, али и повољан биолошки одговор ткива, односно, биокомпабилност и биоиндуктивни потенцијал. Кандидаткиња је на основу резултата 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 физичким и биолошким својствима наноструктурних материјала калцијум алуминатних система.

Чланови Комисије, на основу укупне оцјене докторске дисертације једногласно дају позитивну оцјену о завршеној докторској дисертацији под називом: „*Физичка својства новосинтетисаних наноматеријала калцијум алуминатних система*“ мр сц. Ренате Јосиповић 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 ЧЛНОВА КОМИСИЈЕ

Датум: 10.03.2020.

1.
Доц. др Александра Пере, предсједник
2.
Проф. др Бранислав Глишић, коментор и члан
3.
Доц. др Желька Којић, члан
4.
Доц. др, Оливера Долић резервни члан