

**UNIVERZITET U BANJOJ LUCI  
FAKULTET:**



**IZVJEŠTAJ**  
*o ocjeni urađene doktorske teze*

**PODACI O KOMISIJI**

Na osnovu člana 149. Zakona o visokom obrazovanju ("Službeni Glasnik Republike Srpske" broj 73/10) i člana 52. Statuta Univerziteta u Banjoj Luci, Nastavno-naučno vijeće Medicinskog fakulteta na sjednici održanoj dana 13.05.2014. godine, donijelo je odluku broj 18-3-278/2014 o imenovanju Komisije za ocjenu i odbranu doktorske disertacije mr Aleksandre Đeri pod naslovom "EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU ZUBA PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUS-OM TIPA 1" u sastavu:

1. dr Jovan Vojinović, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, uža naučna oblast: Preventivna i dječija stomatologija; predsjednik komisije
2. dr Radoslav Gajanin, vanredni profesor Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci, uža naučna oblast: Patologija; član komisije
3. dr Slavoljub Živković, redovni profesor Stomatološkog fakulteta u Beogradu, uža naučna oblast: Bolesti zuba; mentor i član komisije

**1. UVODNI DIO OCJENE DOKTORSKE TEZE**

Doktorska teza kandidata mr Aleksandre Đeri pod naslovom "EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU ZUBA PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUS-OM TIPA 1" sadrži devet poglavlja: Uvod, Pregled literature, Radne hipoteze, Ciljevi istraživanja, Materijal i

metode rada, Rezultati, Diskusija, Zaključci i Literatura. Napisana je na 113 strana i sadrži: 12 tabela, 5 grafikona, 48 slika i 115 literaturnih citata.

## 2.UVOD I PREGLED LITERATURE

Svijet se i danas suočava s epidemijom šećerne bolesti (DM). Ta činjenica predstavlja svojevrstan izazov zdravstvenim sistemima, kliničarima ali i pacijentima

Podaci SZO takođe ukazuju na veoma visok procenat karijesa kod djece i odraslih na globalnom nivou. Oko 60%-90% školske djece i skoro 100% odraslih ima makar jedan oboljeli zub. Procenat hroničnih oboljenja koja su u direktnoj povezanosti sa incidencom karijesa i oboljenjima usta i zuba nije zanemarljiv. Diabetes mellitus je metabolički sindrom čija je osnovna karakteristika hiperglikemija a ima potvrđenu korelaciju sa incidencom karijesa zuba i promjenama u oralnoj duplji. Provedena studija nacionalnih koordinatora za dijabetes u RS i Sloveniji pokazala je da je broj oboljelih od dijabetesa tipa 1, u uzrastu od 0 do 18 godina u stalnom porastu. Republika Srpska bilježi porast od 2.3% a Slovenija 4,3%, na godišnjem nivou. S druge strane, povećana je incidenca dijabetesa tipa 1 i u zadnjoj deceniji odnosno kod djece mlađe od 15 godina i to naročito u Evropi. Ovakva poražavajuća statistika ukazuje na potrebu unapređenja zdravstvene zaštite ovih pacijenata u okviru koje se posebna pažnja mora obratiti na uvođenje stomatoloških preventivnih i kurativnih programa. Time bi se postiglo očuvanje vitalnosti zuba a samim tim poboljšalo oralno zdravlje stanovništva.

Oralni status pacijenata sa dijabetesom je specifičan pa su i stomatološke procedure liječenja karijesa još uvijek aktuelna pitanja u savremenoj praksi. Za porast broja oralnih oboljenja, kod DM-a, odgovorni su brojni faktori, ali prije svega hiperglikemija i mikrovaskularni poremećaji. Dok su mehanizmi obolijevanja parodonta kod DM-a potpuno razjašnjeni, promjene u pulpi su i dalje problem brojnih istraživanja. U savremenoj literaturi postoji mali broj naučnih radova koji su se bavili problematikom direktnog prekrivanja pulpe u uslovima hiperglikemije.

S obzirom na aktuelnost problematike i mnogo nerazjašnjenih mehanizama u zubnoj

pulpi, predmet ovih istraživanja je bio analiza efekta direktnog prekrivanja pulpe zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitus- om tipa 1 primjenom dva najčešće korištena materijala za stimulaciju dentinogeneze : mineral trioksid agregata (MTA) i kalcijum hidroksida (CH).

U ovom poglavlju su jasno i logičkim slijedom predstavljene prvi pokušaji prekrivanja pulpe raznim vrstama materijala a zatim su prezentovane kliničke i eksperimentalne studije direktnog prekrivanja pulpe. Akcenat je usmjeren na mineral trioksid agregat i kalcijum hidroksid kao materijal za direktno prekrivanje pulpe a različiti rezultati predstavljenih istraživanja su bili polazna osnova za ovu eksperimentalnu studiju.

Istraživanje je imalo za cilj da se provjeri biološki odgovor pulpe zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim dijabetes mellitusom tipa 1 nakon direktnog prekrivanja mineral trioksid agregatom (MTA) i kalcijum hidroksidom (CH) i da se imunohistochemijskom analizom pulpnog tkiva, provjeri prisustvo i efekat fibronektina (kao direktnog pokazatelja diferencijacije odontoblastoidnih ćelija) kod eksperimentalne i kontrolne grupe nakon direktnog prekrivanja pulpe zuba.

Bliži ciljevi istraživanja bili su da se histološkom analizom pulpe zuba zdravih pacova Wistar soja i onih sa eksperimentalno izazvanim DM tipa 1 provjeri efekat direktnog prekrivanja MTA i CH, poslije perioda od 14 i 30 dana, da se utvrdi korelacija između vrijednosti glikemije i stepena reparacije pulpe nakon direktnog prekrivanja pulpe zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tipa 1, da se imunohistochemijskom analizom pulpe zuba zdravih pacova Wistar soja i pacova sa eksperimentalno izazvanim DM tipa 1 provjeri prisustvo fibronektina nakon 14 i 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe sa MTA i CH.

Doktorska teza kandidata mr Aleksandre Đeri koncipirana na eksperimentalnom istraživanju je na osnovu dobijenih rezultata podacima dala značajan doprinos u razumijevanju mehanizama odbrambenih i reparatornih sposobnosti zubne pulpe u fiziološkim i u uslovima hiperglikemije. Rezultati su posebno značajni obzirom na činjenicu da je u posljednjih 10 godina publikovana samo jedna studija koja se bavi ovom problematikom ( Garber 2009).

Literatura korištena u izradi doktorske teze je adekvatna i savremena i uključuje sve aspekte istraživanja realizovanih u ovoj tezi.

### 3. MATERIJAL I METOD RADA

Za uzorak, u ovom istraživanju, su odabrani pacovi Wistar soja (*Rattus norvegicus*, Wistar Institute, Philadelphia), zbog velike sličnosti u fiziologiji pulpe njihovih zuba sa fiziologijom pulpe humanih zuba. Ovaj model je dosta korišten u studijama jer se eksponiranje pulpe uparenih zuba može realizovati bez kontaminacije pljuvačkom ili bakterijama usne duplje.

U eksperiment su uključena 44 laboratorijska pacova Wistar soja, odnosno 88 prvih gornjih molara. Eksperiment je izveden u vivarijumu Prirodno-matematičkog fakulteta u Banjaluci.

Životinje su bile stare dva mjeseca sa tjelesnom težinom između 150 i 200gr. Pacovi su imali slobodan pristup hrani i vodi tokom trajanja eksperimenta i 12-to časovnu smjenu svjetla i mraka. Temperatura vazduha je održavana na 20-23°C a vlažnost 60%±10%.

Prije provođenja stomatološke procedure direktnog prekrivanja pulpe, životinje su uvedene u opštu anesteziju. Kao opšti anestetik korišten je Ketamin (Ketamine hydrochloride injection USP; Rotexmedica-Germany). Anestetik je doziran prema tjelesnoj težini koja je izmjerena prije davanja anestezije (150-200gr). 1ml ketamina je rastvoren u 9 ml fiziološke otopine i na 50 g tjelesne težine životinja je dobijala 0.1 ml rastvora anestetika intramuskularno iglom promjera 0.45x 0.18 ( Changzhou Jinliyan Medical Devices Co, China). Pacovi su podijeljeni u dvije grupe:

EKSPERIMENTALNU A GRUPU je činilo 22 pacova sa eksperimentalno indukovanim diabetes mellitus-om. Diabetes mellitus je indukovao Alloxan monohydrate-om (Acros organics; New Jersey, USA). Ova grupa je podijeljena na dvije podgrupe:

A1 GRUPA koju je činilo 11 pacova ( 22 zuba na kojima je aplikovan MTA) i  
A2 GRUPA koju je činilo 11 pacova ( 22 zuba na kojima je aplikovan CH)

KONTROLNU B GRUPU je činilo 22 zdravih životinja. I ova grupa je podijeljena na dvije podgrupe:

B1 GRUPA koju je činilo 11 pacova (22 zuba na kojima je aplikovan MTA) i  
B2 GRUPA koju je činilo 11 pacova (22 zuba na kojima je aplikovan CH)

Na svim životinjama je provedena stomatološka procedura direktnog prekrivanja pulpe.

Žrtvovanje eksperimentalnih životinja je urađeno u tri navrata: nakon opservacionog perioda od 7 dana (3 pacova iz A1 grupe, 3 pacova iz A2 grupe, 3 pacova iz B1 grupe i 3 pacova iz B2 grupe)- za imunohistohemijsku analizu; nakon opservacionog perioda od 15 dana (4 pacova iz A1 grupe, 4 pacova iz A2 grupe, 4 pacova iz B1 grupe i 4 pacova iz B2 grupe)- za imunohistohemijsku i histološku analizu; nakon opservacionog perioda od 30 dana (4 pacova iz A1 grupe, 4 pacova iz A2 grupe, 4 pacova iz B1 grupe i 4 pacova iz B2 grupe) za imunohistohemijsku i histološku analizu.

Sve procedure na životinjama koje podrazumijevaju njegovanje, eksperimentalne postupke, bezbolno i žrtvovanje bez stresa, su izvedene u skladu sa Smjernicama za brigu o životinjama u eksperimentalnim istraživanjima („Guide for the Care and Use Laboratory Animals“, 1996 National Academy Press, Washington, DC).

Životinje su žrtvovane dekapitacijom pod dubokom eterskom anestezijom. Nakon dekapitacije, gornjovilične kosti su odvajane od mekih tkiva (hirurškim skalpelom i makazama) a zatim pohranjene u fiksativ (10% neutralni puferovani formalin).

Odobreni ciljevi i metodologija koji su dati prilikom prijave doktorske teze ostali su nepromijenjeni tokom rada, uz povećan broj eksperimentalnih životinja u odnosu na broj prijavljenih životinja (sa 32 na 44) a u svrhu boljih imunohistohemijskih rezultata.

Navedene metode izrade doktorske teze su potpuno adekvatne ispitivanoj tematici i savremene, imajući u vidu delikatnost eksperimentalnog postupka i potrebnu manuelnu vještinu za njegovo izvođenje.

Pravilno upotrebljenom statističkom analizom podataka, dobijeni rezultati su jasno i sistematično prikazani. Za statističku analizu, te tabelarne i grafičke prikaze rezultata korišten je sljedeći software: SPSS 16.0 for Windows MS Office Word 2007 i MS Office Excel 2007.

#### 4. REZULTATI I NAUČNI DOPRINOS ISTRAŽIVANJA

Istraživanja koja se bave direktnim prekrivanjem pulpe su zadnju deceniju fokusirana na MTA- mineral trioksid agregatu, novom materijalu za direktno prekrivanje pulpe koji je pokazao izuzetnu biokompatibilnost. Rezultati ove studije su ukazali na statistički značajnu razliku u terapijskom uspjehu direktnog prekrivanja pulpe MTA u komparaciji sa CH- kalcijum hidroksidom. Obzirom da je istraživanje obuhvatilo analizu metabolizma pulpe u uslovima eksperimentalno izazvane hiperglikemije, pokazalo se da MTA posjeduje terapijsku efikasnost na bolesnim životinjama gotovo sličnu kao CH na zdravim životinjama.

Doktorska disertacija kandidata mr Aleksandre Đeri je dala i sistematsku analizu ekspresije fibronektina, ekstracelularnog proteina, 7,14 i 30 dan od postavljanja materijala za direktno prekrivanje pulpe. Analizom dobijenih rezultata potvrđena je uloga fibronektina kao signalne molekule u procesu odontogeneze i važnog trigera za pokretanje imunoloških reakcija u pulpi kod zdravih i bolesnih životinja. Obzirom na veliku sličnost fiziologije pulpe zuba pacova i humane pulpe dobijeni rezultati bi mogli imati značaja i u terapijskim protokolima liječenja pulpitisa.

Rezultati su pokazali da je MTA efikasnije sredstvo za direktno prekrivanje pulpe zuba pacova od CH i u fiziološkim i u uslovima eksperimentalno izazvane hiperglikemije.

Direktno pokrivanje pulpe MTA zdravih jedinki rezultiralo je formiranjem kompletnog dentinskog mosta poslije perioda od 30 dana dok je direktno pokrivanje pulpe CH zdravih jedinki dovelo do formiranja inkompletnog dentinskog mosta poslije istog perioda.

Direktno pokrivanje pulpe CH zdravih jedinki pokazalo je veći nivo inflamatornih promjena u pulpi nakon 30 dana nego MTA, dok nekroza pulpe nije zabilježena ni u jednom uzorku kod oba materijala.

Direktno pokrivanje pulpe MTA jedinki sa eksperimentalno izazvanim diabetes melittus-om tipa 1 rezultiralo je formiranjem kompletnog dentinskog mosta dok kod direktnog pokrivanja pulpe CH kod jedinki sa eksperimentalno izazvanim diabetes melittus-om tipa 1 rezultiralo je formiranjem inkompletnog dentinskog mosta.

Direktno pokrivanje pulpe MTA kod jedinki sa eksperimentalno izazvanim diabetes melittus-om tipa 1 je pokazalo mnogo izraženije inflamatorne promjene tkiva nego kod zdravih jedinki u oba opservaciona perioda. Nekroza pulpe nije zabilježena ni u jednom uzorku.

Direktno pokrivanje pulpe CH jedinki sa eksperimentalno izazvanim diabetes melittus-om tipa 1 je pokazalo mnogo izraženije inflamatorne promjene tkiva pulpe nego kod zdravih jedinki u oba opservaciona perioda sa prisutnom nekrozom pulpnog tkiva.

U istim uslovima hiperglikemije, nakon eksperimentalno izazvanog diabetes melittus-a tipa 1, MTA se pokazao efikasnijim u oba opservaciona perioda.

Ekspresija fibronektina 7 dana nakon aplikacije MTA ili CH je izrazito visoka u obje eksperimentalne grupe, 14-og dana nakon aplikacije MTA je umjerena u grupi sa zdravim jedinkama a slaba (ali vidljiva) u grupi jedinki sa hiperglikemijom. 30-og dana ekspresija fibronektina je bila negativna u svim grupama.

Rezultati doktorske disertacije kandidata mr Aleksandre Đeri prikazani su jasno i logičnim redom.

Preglednim i sistematizovanim histološkim i imunohistohemijskim prikazima, preglednim tabelama i grafikonima, koji proizilaze iz primjenjene metodologije istraživanja.

Dobijeni rezultati su precizno i jasno diskutovani i upoređivani sa nalazima sličnih istraživanja.

Uzimajući u obzir da je diabetes mellitus bolest modernog doba koja poprima okvire pandemije, a da su istraživanja iz oblasti patologije pulpnog tkiva kod dijabetičara veoma rijetka, doktorska disertacija mr Aleksandre Đeri "EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1 " tako da predstavlja originalno naučno istraživanje sa značajnim naučnim doprinosom kako u oblasti stomatologije, tako i u oblasti endokrinologije. Originalnost teze ogleda se u mogućnosti primjene dobijenih rezultata u praksi i moguće unapređenje terapijskog protokola u liječenju dubokog karijesa

## 5. ZAKLJUČAK I PRIJEDLOG


Na osnovu pravilno uočenog problema, jasno definisanih ciljeva, adekvatno odabrane i pravilno realizovane metodologije, jasno predstavljenih i diskutovanih rezulta doktorska disertacija mr Aleksandre Đeri "EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1 " je rezultat je samostalnog i originalnog istraživanja baziranog na savremenim principima naučno-istraživačkog rada.

Sa uspjehom su realizovani svi postavljeni ciljevi, a rezultati su eksplicitno prikazani i jasno diskutovani. Rezultati ove disertacije predstavljaju značajan doprinos terapiji karijesa i mogu imati praktični značaj i primjenu u konzervativnoj stomatološkoj terapiji oboljelih zuba.



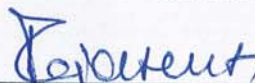
Ova disertacija, istovremeno, pokazuje sposobnost doktoranta da istraživanju pristupi logički, sveobuhvatno i cjelovito. Istraživački projekat je originalan jer sličnih istraživanja u ovoj sredini nije bilo. Komisija sa posebnim zadovoljstvom predlaže Naučno-nastavnom vijeću Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci da usvoji pozitivnu ocjenu ove doktorske disertacije i odobri mr Aleksandri Đeri javnu odbranu.

Članovi komisije za ocjenu urađene disertacije mr Aleksandre Đeri „EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1“:

  
Prof. dr Jovan Vojinović  
dečja i preventivna  
stomatologija

Prof. dr Jovan Vojinović, predsjednik komisije

Prof. dr Radoslav GAJANIN  
SPECIALISTA PATOLOG



Prof. dr Radoslav Gajanin, član

  
Prof. dr Slavoljub Živković, mentor i član

