

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



**ИЗВЈЕШТАЈ**

*о оцјени подобности теме и кандидата за израду докторске тезе*

**ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ**

Одлуком Наставно-научног вијећа Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци број: 18/3.514/2015 од 16.06.2015. године, именована је Комисија за оцјену подобности теме под насловом "Ефикасност природних заслађивача у заштити зубне глеђи од газираних напитака" и кандидата мр Ђорђа Мирјанића, у саставу:

1. Др Мирјана Ивановић, редовни професор, ужа научна област Дјечија и превентивна стоматологија, Стоматолошки факултет Универзитета у Београду, предједник;
2. Др Јован Војиновић, редовни професор, ужа научна област Дјечија и превентивна стоматологија, Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, члан;
3. Др Дубравка Марковић, редовни професор, ужа научна област Протетика, Медицински факултет Универзитета у Новом Саду, члан.

**1. БИОГРАФСКИ ПОДАЦИ, НАУЧНА И СТРУЧНА ДЈЕЛАТНОСТ  
КАНДИДАТА**

Кандидат је уз пријаву рада приложио следећу:

**БИОГРАФИЈА**

Рођен је 23. новембра 1983. године у Бањој Луци. Основну и средњу школу завршио је у Бањој Луци.

Медицински факултет Универзитета у Бањој Луци, Одсек стоматологија, завршио је 15. јула 2008. године, са просјечном оцјеном 8,29.

Активно познаје енглески језик и рад на рачунару.

Стручни испит за звање доктора стоматологије положио је 27. децембра 2008. године. Специјализацију из дјечије и превентивне стоматологије започео је 9. септембра 2012. године.

На постдипломском студију из стоматологије на Медицинском факултету Универзитета у Бањој Луци положио је све испите предвиђене наставним планом и програмом, са просјечном оцјеном 9,82, и успјешно одбранио магистарски рад 14.11.2012. године под насловом *Атомска микроскопија наноструктуре глеђи*.

Запослен је у ЈЗУ Дом здравља у Бањој Луци од 30. децембра 2008. године.

Од 2008. године члан је Коморе доктора стоматологије Републике Српске.

## БИБЛИОГРАФИЈА

Оригинални научни радови у научном часопису националног значаја (прва категорија)

1. Vojinović J., Ćupić S., Dolić O., Mirjanić Đ., Sukara S., Obradović M. SUCCESS RATE OF THE ENDODONTIC TREATMENT OF YOUNG PERMANENT TEETH WITH CALCIUM HYDROXIDE. *Contemporary materials* 2010; 1–2: 163-167.

2. Vojinović J., Ćupić S., Mirjanić Đ., Sukara S., Dolić O., Obradović M. REMINERALIZATION OF EARLY CARIES LESIONS WITH GLASS IONOMER CEMENTS. *Contemporary materials* 2010; 1–2: 175-178.

Научни радови на научним скуповима међународног значаја штампани у цјелини

1. Vojinović J., Sukara S., Ćupić S., Đukanović D., Mirjanić Đ. TEM ANALIZA REAKCIJE HUMANIH ĆELIJA APIKALNOG PARADONCIJUMA U KONTAKTU SA PASTOM KALCIJUM HIDROKSIDA. *Savremeni materijali* 2010; 12: 577–584.

2. Сукара С., Војиновић Ј., Мирјанић Ђ. ПРИМЈЕНА ГЛАС-ЈОНОМЕР ЦЕМЕНТА У СКЛОПУ АТРАУМАТСКОГ РЕСТАУРАТИВНОГ ТРЕТМАНА КОД ДЈЕЦЕ ДО ТРИ ГОДИНЕ. *Савремени материјали* 2010; 12: 585–591.

3. Марин С., Арбутина А., Шушчевић Д., Вукић З., Ђукић Ј., Мирјанић Ђ. СМАЊЕЊЕ ОСЈЕТЉИВОСТИ НА НИКЛ ПРИ УПОТРЕБИ НИКЛ-ТИТАНИЈУМ ЖИЦЕ ОБЛОЖЕНЕ ТИТАНИЈУМОМ У СТОМАТОЛОШКОЈ ПРАКСИ. *Савремени материјали* 2010; 12: 631–638.

4. Мирјанић Ђ., Мирјанић В., Војиновић Ј. УТИЦАЈ АГРЕСИВНОГ НАПИТКА НА НАНОСТРУКТУРУ ГЛЕЂИ ЗУБА. *Савремени материјали* 2014; 22: 575-585.

5. Mirjanić V., Mirjanić Đ., Vojinović J. NANOSTRUKTURA ORTODONTSKOG GC FUJI ORTHO LC ADHEZIVA. *Savremeni materijali* 2014; 22: 643-652.

6. Веселиновић В., Гајић Н., Тртић Н., Арбутина Р., Мирјанић Ђ. КОМПАРАТИВНА АНАЛИЗА МАТЕРИЈАЛА ЗА ИЗРАДУ НАДОГРАДЊИ КОД ЕНДОДОНТСКИХ ЛИЈЕЧЕНИХ ЗУБА – БИОМИМЕТСКИ АСПЕКТ. *Савремени материјали* 2014; 22: 727-740.

7. Мирјанић В., Мирјанић Ђ., Војиновић Ј. НАНОСТРУКТУРНА АНАЛИЗА CONTEC LC – DENTAURUM ОРТОДОНТСКОГ АДХЕЗИВА, *Савремени материјали* 2015; 24: 589-601.

8. Мирјанић Ђ., Мирјанић В., Војиновић Ј. АФМ АНАЛИЗА НАНОСТРУКТУРЕ ГЛЕЂИ НАКОН ДЈЕЛОВАЊА АГРЕСИВНОГ НАПИТКА, *Савремени материјали* 2015; 24: 603-617.

9. Мирјанић Ђ., Мирјанић В., Војиновић Ј. НАНОСТРУКТУРА ГЛЕЂИ НАКОН ДЈЕЛОВАЊА АГРЕСИВНОГ НАПИТКА, Симпозијум стоматолога са међународним учешћем, Нови Сад 2015; 119-123.

Учешће на научним скуповима:

1. Сукара С., Војиновић Ј., Мирјанић Ђ. *Примјена glas-jonoter цемента у склопу атрауматског реставративног третмана код дјеце до три године*. АНУРС, Други међународни Научни скуп „Савремени материјали 2009“; Бања Лука 3–4. јули 2009.
2. Војиновић Ј., Долић О., Мирјанић Ђ., Сукара С., Обрадовић М. *Стопа успјешности ендодонтског третмана младих трајних зуба са калцијум-хидроксид пастом*. Трећи међународни Научни скуп „Савремени материјали 2010“. Бања Лука, 2–3. јули 2010.
3. Војиновић Ј., Сукара С., Долић О., Мирјанић Ђ., Обрадовић М. *Реминерализација почетних кариозних лезија помоћу glas-jonoter цемента*. Трећи међународни Научни скуп „Савремени материјали 2010“. Бања Лука, 2–3. јули 2010.
4. Мирјанић Ђ., Војиновић Ј., Милеуснић И., Ђуричић И. *АФМ испитивање зубне глеђи третиране киселим агенсима*, Пети међународни Научни скуп „Савремени материјали 2012“. Бања Лука, 5–7. јули 2012.
5. Војиновић Ј., Ћипић С., Ђукановић Д., Мирјанић Ђ. *Nanoapatite and the dental enamel remineralization*. The second scientific international conference Water and Nanomedicine, August 30, 2011 Academy of Sciences and Arts of Republic of Srpska, Banja Luka.
6. Веселиновић В., Гајић Н., Тртић Н., Арбутина Р., Мирјанић Ђ. *Компаративна анализа материјала за израду надоградњи код ендодонтских лијечених зуба – биомиметски аспект*. Седми међународни Научни скуп „Савремени материјали 2014“. Бања Лука, 22–23. децембар 2014.
7. Мирјанић В., Мирјанић Ђ., Војиновић Ј. *Наноструктурна анализа CONTEC LC – DENTAURUM ортодонског адхезива*. Седми међународни Научни скуп „Савремени материјали 2014“. Бања Лука, 22–23. децембар 2014.
8. Мирјанић Ђ., Мирјанић В., Војиновић Ј. *АФМ анализа наноструктуре глеђи након дјеловања агресивног напитка*. Седми међународни Научни скуп „Савремени материјали 2014“. Бања Лука, 22–23. децембар 2014.

## 2. ЗНАЧАЈ И НАУЧНИ ДОПРИНОС ИСТРАЖИВАЊА

### Значај истраживања;

Бројне студије у свијету, као и претходна истраживања кандидата су недвосмислено показале дејство газираних напитака, посебно кола типа на површинску структуру глеђи. Исто тако потрошња кола напитака је у све већем порасту, посебно код младих, па поједине анкете биљеже да их користе чак и дјеца од двије године. Због тога је значајно да се преиспитају све могућности додатне заштите глеђи.

Предложено истраживање представља оригинални допринос изучавању механизма заштите зуба од спољашњих некариозних фактора. Сам аутор, али и бројни други истраживачи су указали на деструктивна својства газираних напитака по наноструктуру кристалне решетке зубне глеђи. Али мали број је објављених

студија о могућим заштитним факторима.

Кандидат истиче да испитивање природних материја које имају способност да опорављају зубну глеђ или појачају њену отпорност није значајно само као заштита од дејства ерозивних напитака, већ могу да послуже и као превенција самог каријеса зуба пошто се ради о сличним патофизиолошким механизмима поремећаја равнотеже реминерализације и деминерализације.

### **Преглед истраживања;**

Кандидат мр Ђорђе Мирјанић је у својој пријави кроз 33 референце, већином из последњих пет година, опширно приказао досадашња истраживања везана за предложену тематику.

Примјена газираних напитака је у непрекидном порасту широм свијета. Поједине новије студије показују да их све више конзумирају и дјеца млађа од пет година, а да је све већи број особа који уносе и по више пута дневно па чак и количине преко 1l. У једној студија у Калифорнији утврђено је да је 43% испитиваних петогодишњака пило најмање једно газирано пиће дневно, док је 4% пило четири и више [1]. И то је у складу са ранијом великом студијом (2005 год.) која је показала да у Калифорнији преко 40% дјеце узраста 2-11 година пије најмање једно газирано пиће дневно. Као могући општи поремећаји спомињу се гојазност, повећана агресивност и други облици поремећеног понашања [2-4].

Последњих година бројна истраживања указују на штетне ефекте газираних напитака како на опште здравље тако и на зубну глеђ [5-8]. То су показала и наша истраживања спроведена у току 2011 год. [9]. Тада смо открили постојање агресивних утицаја приликом *in vitro* излагања зубне глеђи у газираном напитку. Они су се огледали у нарушеном интегритету кристалне решетке испитиваном помоћу AFM-а који се примјећује већ после 5 минута држања глеђи у раствору Cоsa Cole. Површинска структура пружа одређену отпорност после почетне деминерализације која значајно попушта после два сата излагања у газираном напитку. Под утицајем кока-коле долази до статистички значајног нарушавања интегритета кристалне решетке који се запажа после пет минута дјеловања што се уклапа са најчешћим начином конзумирања овог газираног напитка. Оштећења глеђи су прије свега била везана за смањење дебљине кристала и стварање јамица која повећавају укупну храпавост површине. Већа храпавост доводи до већег контакта са киселинама и повећава могућност даљег оштећења. Један од закључака је био да даља истраживања треба усмјерити на догађања у ултраструктури глеђи у периоду после 2 h дјеловања и то поредити са физиолошким условима у усној дупљи. Ово истраживање је показало да се помоћу AFM могу успјешно пратити промјене на површини глеђи, тумачити ултраструктурна конфигурација кристалне фазе и оштећење настало под утицајем различитих спољашњих фактора. Сличне закључке су донијеле и друге студије у којима су промјене на површини глеђи регистроване помоћу AFM-а [10,11]. Поједини истраживачи су навели одређене предности у анализирању површинских промјена на глеђи помоћу SEM-а [12-16].

Развојем AFM технологије остварен је посебан напредак у анализи наноструктура различитих површина. Овај софистицирани апарат базиран је на високој резолуцији своје сонде која може да детектује фракције у нанометрима и то много боље (1000 пута прецизније) него што је граница оптичког преламања. Творци ове технологије су научници Gerd Binnig и Heinrich Rohrer из IBM истраживачке лабораторије у Rueschlikonsu у Швајцарској. Они су 1981. године са проналаском *скенинг тунел микроскопије* остварили вјековни сан научника – могућност посматрања појединачних молекула и атома, због чега им је и додијељена Нобелова награда 1986. године [17,18]. Њихов проналазак је имао доста ограничења јер је могао да испитује само узорке који проводе електрицитет, тако да се није могао примјењивати на биолошком материјалу. Binnig је наставио своја истраживања и 1986 године је презентовао усавршену варијанту апарата названог *Atomic force microscope* (AFM), способног да испитује и проводнике и непроводнике. Основни принцип рада AFM-а се не разликује много од функционисања некадашњих грамофона, код којих је оштра игла у грамофонској глави прелазила и скенирала винилну грамофонску плочу, преносила механичке промјене у електрични сигнал и репродукцију звука. AFM не „види“ атоме већ их практично „осјећа“ тако што се испитивана површина скенира помоћу веома оштрог конуса од силикона или силикон нитрида. Конус се налази на крају флексибилне конзоле – „*кантилевера*“ који може да прати чак и најмање детаље на површини. Када се врх конуса, који се састоји од појединачног атома приближи површини узорка он се помјера под дејством сила између њих. То може да буде механичка сила, van der Waalsova сила, капиларна сила, хемијска веза, електростатичка сила, магнетна сила, Casimirova сила, и друге у зависности од врсте узорка. Уколико је та разлика довољно велика, чак и минимална помјерања могу да се региструју, чиме се омогућава испитивање промјене структуре површине у висини атома. Апарат представља микроскопе (наноскоп) највеће моћи резолуције. На основу тога може да се формира мапа испитиване површине [19-21].

Ипак, AFM не даје потпуну тродимензионалну слику самог квалитета промјена, тако да је најбоља комбинација вршити упоредну анализу ултраструктуре са SEM-ом [22].

Мало је истраживања до сада која су имала за циљ да испитају могућност и степен репарације оштећеног ткива глеђи после дејства газираних напитака. Углавном су испитиване поједине зубне пасте са флуоридима, аргинином и касеин фосфептидом у аморфном калцијум фосфату (CPP-ACP) [22, 23]. Степен опоравка глеђи је био различитог интензитета и највише изражен код аргинина и CPP-ACP. Нисмо пронашли студије које би испитивале у којој мјери претходни третман са појединим препаратима смањује интензитет промјена.

У последње вријеме се све више спомиње улога полалкохола (полиола) Ксилтиола (Xylitol), не само у инхибицији развоја кариогених микроорганизама (*s. mutans*), већ и у реминерализацији зубне глеђи. Ксилитол спада у ацикличне полиалкохоле који представљају такође групу угљених хидрата, али за разлику од

шећера слабије се разлажу и абсорбују знатно спорије у дигестивном тракту. Хемијски се разликују од шећера јер умјесто карбоксилне посједују хидроксилну групу. Обично се налазе у лагуминозама, поједином воћу (шљиве), печуркама, житарицама и другим намирницама богатим са влакнима. У храни обично замјењују шећере у односу 1:1. Имају слабији утицај на подизање глукозе у крви и стварају од 0 (еритрол) до 3 kcal/g. Бактерије усне дупље, посебно кариогене из оралног биофилма, не могу или минимално разлажу полиоле, а самим тим не стварају киселине узрочнике глеђне деминерализације. Ксилитол је уведен у стоматологију 70-тих година прошлога вијека и бројне студије су указале на способност смањења каријеса [24,25]. Поједине експерименталне и клиничке студије су указале на способност ксилитола да врши реминерализацију кариозне лезије [26,27].

Стевиа је нова врста природног заслађивача који показује читав низ позитивних својстава на здравље организма [28,29]. Стевиа је род од око 240 биљних врста из породице сунцокрета поријеклом из тропских предјела Сјеверне и Јужне Америке. Врста Стевиа рабундиана је позната и као слатки или шећерни лист. Слаткоћа стевиних листова је интензивнија и дуготрајнија (и до 300 пута) од сахарозе. И поред хиљадугодишњег коришћења постојала је до скоро сумња у вези њене масовне примјене, базирана на неким експериментима на животињама [30, 31]. Ипак у Јапану се користи већ деценијама, у САД је дозвољена као додатак исхрани, у ЕУ је дозвољена од 2010. године [32,33].

#### **Радна хипотеза са циљем истраживања;**

Након детаљног прегледа литературе, дефинисања проблема и правца истраживања, кандидат је поставио сљедећу хипотезу:

- Природни заслађивачи ксилитол и стевиа имају значајне заштитне ефекте смањујући оштећења глеђи под дејством газираног напитка и као таква могу да се препоруче као превентивна свакодневна средства без потенцијалних штетних ефеката.

Резултати истраживања требали би потврдити наведену хипотезу, а ради доказивања наведене хипотезе, постављени су сљедећи циљеви:

- Испитати у којој мјери природни заслађивачи типа ксилитола и стевие могу да заштите и опораве површину глеђи од оштећења изазваних агресивним газираним напитком кока-колом.

- Да се упореде резултати глеђне структуре и ултраструктуре добијени са SEM-ом и AFM-ом технологијом.

#### **Материјал и метод рада;**

Материјал би сачињавали зуби човјека са интактном глеђи, екстраховани због парадонтопатија или из ортодонтских разлога, добијеним уз сагласност пацијента из Међународног центра за стоматолошку едукацију, консултативно-конзилијарне

анализе и савјетодавно стручну помоћ у судско медицинским споровима из области стоматологије у Новом Саду, а у складу са етичким протоколом који је одобрен од стране Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци. Прије вађења, са зуба су уклоњене меке наслаге и наслаге калкулуса. Помоћу дијамантске шајбне, примјењујући мали број обртаја, уз хлађење водом, раздвојен је коријен зуба од крунице. Затим су зуби стављени у стерилни физиолошки раствор на температури од 4 °C.

Укупно је одабрано 96 зуба са подједнаком заступљеношћу оба пола од млађих особа од 12 до 25 година. Зуби из ортодонских разлога се углавном ваде послје дванаесте године и највише у пубертету када је и терапија најефикаснија. Углавном се ради о првим премоларима који се појављују око осме до девете године тако да је и глеђ довољно сазрела. Ти зуби исто тако су у томе периоду ријетко захваћени каријесом. Млијечни зуби које би могли да користимо послје испадања већ су промијењени и нису важни са здравственог аспекта, а осим тога у млађем узрасту конзумација газираних напитака је ипак мала и због тога сматрамо да није потребно формирати групу са млијечним зубима. Зуби су подијељени у три групе, у којима је од сваке групе узето по 32 узорка глеђи. Прва група ће бити третирана 10% раствором ксилитола праха (Miradent<sup>R</sup>, Њемачка), друга 10% раствором природног праха Стевиа ребундиана и трећа експериментална без дејства било каквог средства.

Прва група ће се третирати 24 h у 10% раствору ксилитола, друга у 10% раствору стевие ребаудиана, а трећа само држати у раствору вјештачке пљувачке. Послије тога периода ће се све групе држати у раствору Cоsa Cole на температури од 37 °C у трајању од 12 h што је у нашем претходном истраживању у магистарском раду показало као период када почињу најизраженија оштећења. Послије тога би зуби поново били враћени у првобитне растворе.

Након тога извршена је њихова припрема за анализу помоћу Скенинг електронског микроскопа (Scanning Electrone Microscopy SEM) и Микроскопа међуатомских сила (Atomic force microscopy AFM) у NanoLab, Биомедицинско инжењерство на Машинском факултету Универзитета у Београду.

Сваки зуб понаособ ће бити испитиван са Скенинг електронским микроскопом (SEM) и са Микроскопом међуатомских сила (AFM).

SEM је типа *SEM JEOL T220* који се састоји и од напрашивача *BLAZERS SDC-050*.

Да би се појединачни узорак могао скенирати електронским микроскопом мора бити електрично проводљив. Ово је важно због што мање дисторзије добијене слике, што бољег пријема снопа електрона на површину узорка као и постизање боље емисије секундарних електрона. Површине узорака које по природи нису проводљиве, помоћу овог уређаја морају бити направљене прикладним електричним проводљивим слојем. Услов за напрашивање је да узорак буде чист, а додатно се третира аргоном под притиском 0.05-0.1 mbara да би се одстранили кондензовани гасови, посебно водена пара. Наношење танке проводљиве превлаке се додатно врши напаривањем у вакуумским условима због што прецизније превлаке високо структурираних узорака. Напрашивање се врши не само метално проводљивим

слојем злата, него се превлака на површини узорка може начинити карбонским влакном. Висина топа напрашивача од узорка треба бити оптимално 5 cm, а напрашивање златом се врши при напону 300 V и оптимално траје 40 секунди при струји 40 mA за проводљиви слој злата дебљине 10 nm. Да би се са исте радне дистанце са аргонном, напрашио узорак, слојем злата, при струји од 60 mA, дебљина слоја је 33 nm по минути.

Величина узорка која се може скенирати је пречника од 10-32 mm и висине до 10 mm. Резолуција снимка је максимално 5 nm, могуће увећање је у распону од 15 до 200 000 пута, напон акцелерације: 0.5-30KV. Микроскоп троши 2 l у минути расхладне воде и снаге из мреже 100 V AC 50/60Hz 2kW, сталне струје 20 A, гдје је струја покретања микроскопа 60A.

Протокол за напрашивање узорка одвија се на сљедећи начин: припрема двослојне љепљиве фолије и стављање на носач – стуб; постављање припремљеног узорка зуба на носач; гашење напрашивача кад је вакуум пумпа довољно загријана; вентилирање конзоле за напрашивање и отварање куполе напрашивача; постављање узорка зуба у куполу за напрашивање; притиском на SPUTTERING убацујемо аргон за што бољу припрему узорка и што боље извлачење влаге помоћу вакуум пумпе.

Протокол за скенирање одвија се: постављањем стубића са узорцима зуба на носач стубића; вентилирање електронског топа микроскопа и постављање конзоле са узорцима; покретање вакуум пумпе микроскопа са PUMP DOWN; активирање топа са потенциометром H Voltage до максималне вриједности и Филамента до позиције означене линијом; приказ узорка помоћу основних команди микроскопа (SPOT SIZE, BRIGHTNES, CONTRAST, FOCUS, FILE FOCUS, MAGNIFICATION itd); покретање програма за приказ слике микроскопа на рачунару ORION; подешавање дијела узорка који се посматра по свим осама помоћу команди на електронском топу микроскопа, фокусирање дијела узорка FOCUS и снимање слике у Photo modu на увећању које је претходно намјештено SHUTTLE и похрањивање на локални рачунар.

За AFM испитивање биће коришћен нанотехнолошки уређај JSPM-5200. Ради се о интегрисаном наносистему са више радних модова код којег је могуће реализовати сљедеће функције: STM, AFM, MFM, ECSPM. JSPM-5200 се састоји од AFM базе, анти-вибрационог стола, AFM појачивача, SPM контролора, рачунара, и опционих компоненти као што су микроскопски систем са CCD камером, вакуум систем итд. Овај софистицирани апарат базиран је на високој резолуцији своје сонде која може да детектује фракције у нанометрима и то много боље (1000 пута прецизније) него што је граница оптичког преламања.

Узорци глеђи зуба који ће се испитивати помоћу AFM-а су димензија 3mm x 2mm x 2mm и не захтијевају површинску припрему. Меке структуре богате водом морају да се имобилизују у специјалној посуди са течномашћу (fluid cell can), које омогућавају природне површинске промјене у реалном времену.

Употребом програма WinSPM (Processing) извршиће се анализа слике. Овај



програмски пакет омогућава кориснику обављање различитих функција за обраду, како би се побољшао квалитет слике добијене програмом за скенирање. Анализа профила на слици скениране површине може се радити на више начина: Single, Multi, Extra i Multiple Images. Код Single анализе једна произвољна линија може бити постављена у било ком смјеру унутар слике, а мјере се удаљености између двије тачке и висинска разлика између до три пара маркера. Код Multi анализе може бити постављено до пет произвољних линија у било ком смјеру унутар слике. Код Extra анализе се унутар постављене правоугаоне области мјери храпавост скениране површине и код Multiple Images анализе могу бити постављене до три слике, а профил се анализира на истој линији. Овдје је кориштена Multi анализа профила.

Овај програм, WinSPM (Processing), омогућава и генерисање тродимензионалних слика скениране површине (птичија перспектива). Параметри који се могу подешавати су Position (смјер приказа), Zoom (висина по Z-оси) и Centering (центрирање површине у односу на екран).

На крају ћемо користити функцију креирања извјештаја, која се користи за приказивање слика, мјерења, профила и 3D слика у облику извјештаја за штампање који ће бити приказани у резултатима истраживања. Подразумијева се да је формат странице A4 у вертикалном положају. Могу бити приказани подаци о мјерењу за изабрану 2 D слику.

Пошто се помоћу AFM-а могу мјерити различите силе, примјена те технологије је веома широка и популарна међу различитим научним истраживањима и то не само у биолошким наукама и техничким наукама (испитивањима материјала). У свим случајевима, сила која изазива помјерање је танана и пропорционална удаљености врха од површине. Када се испитује површина узорка неопходно је да сила буде непромијењена, што се означава као „*constance force mod*”. Истовремено се као последица торзионе флексије (торзионо савијање) добијају и информације о фрикционим својствима (трење) испитиване површине. Ипак, за веома меке површине, фрикциони ефекти нису пожељни тако да је уведен и пулсирајући режим кантилевера – *tepping mode*. Ово стање се изазива помоћу осцилирајућег пиезо кристала који фрикционе ефекте претвара у електричне осцилације.

Испитивања наноуреца (*nanoindentation*) помоћу AFM-а је врло селективна и недеструктивна метода за израчунавање тврдоће и модула еластичности. У стоматологији, чији је развој великим дијелом условљен познавањем и праћењем биолошких и механичких карактеристика тврдих (минерализованих) ткива, тек су посљедњих година започета истраживања са овом прецизном техником. Резултати тих анализа ткива усне дупље увела су и стоматолошку науку у наноеру.

Слике ће се радити са веома успореним скенирањем на површини од сваких  $25,0 \mu\text{m}^2$ , фреквенцијом скенирања од 0,1Hz са 256 линија по узорку, како би се избјегла оштећења сонде.

Код анализе резултата добијених храпавости најчешће се користе: просјечна

храпавост ( $R_a$ ), храпавост методом најмањих квадрата ( $R_q$ ), храпавост пресека десет тачака ( $R_{zijs}$ ) и храпавост која се одређује као највећа разлика висина ( $R_z$ ). Храпавости се изражавају у нанометрима (nm). Просјечна храпавост ( $R_a$ ) дефинише се као просјечно растојање средње линије када се посматра као да су локални минимуми, локални максимуми. Храпавост методом најмањих квадрата ( $R_q$ ) се дефинише као девијација методе најмањих квадрата у односу на средњу линију  $Z_0$ . Храпавост просјека десет тачака ( $R_{zijs}$ ) се дефинише као збир средњих вриједности апсолутне вриједности девијација од средње линије између највеће девијације и пете највеће девијације и апсолутне вриједности између најмање девијације и пете најмање девијације.  $R_z$  је највећа разлика висина и може се илустративно представити као разлика између „највишег брда” и „најдубље долине”. Ово се дефинише као разлика између највеће измјерене висине  $Z_{max}$  и најмање измјерене висине  $Z_{min}$  пиезо-скенером дуж његове  $z$  - осе током анализе слике.

За статистичку анализу кориштена је „топографија“ наноструктура глеђи добијена мјерењем на глеђима у раствору ксилитола праха (Miradent<sup>R</sup>, Њемачка), раствором природног праха Стевиа ребундиана, физиолошком раствору и у раствору газираног напитка (кока-кола). Ријеч је о „везаном“ узорку (прије и после абразивног дјеловања газираног напитка), тако да на располагању стоји узорак од 5.120 топографија наноструктура глеђи зуба. Уствари, на располагању је укупан узорак од 10.240 топографија наноструктура глеђи зуба. Под топографијом се подразумијева површина наноструктуре глеђи зуба. За статистичку анализу израчунавају се димензије сваке од посматраних 5.120 наноструктура. Основни параметар је висина поједине наноструктуре. Дескриптивна анализа је кориштена за опис стања узорка (прије и после абразивног дјеловања). Од параметара дескриптивне статистике користиће се: аритметичка средина, стандардна девијација, мод и медијана и коефицијент варијације. Значајност разлика ће бити тумачена на основу резултата Т теста.

Са обе микроскопије ће се ипитивати степен интегритета спољашњих слојева хидроксил апатита, постојање и величина ерозивних кратера, као и сва четири типа просјечне храпавости ( $R_a$ ,  $R_q$ ,  $R_{zijs}$  и  $R_z$ ). Као јединица испитивања ће бити прегледана површина која је дефинисана измјереним храпавостима, а на основу тога ће се одредити корелација између просјечних храпавости и степена разарања глеђних ултраструктурних компоненти.

### **Научни допринос истраживања;**

Изучавање механизма заштите зуба од спољашњих некариозних фактора представља оригинални допринос у предложеном истраживању. Сам аутор, али и бројни други истраживачи су указали на деструктивна својства газираних напитака по наноструктуру кристалне решетке зубне глеђи. Мали број је објављених студија о могућим заштитним факторима. Ово би било једно од првих истраживања природних материја које имају способност да опорављају зубну глеђ или појачају

њену отпорност. Она нису значајна само као заштита од дејства ерозивних напитака, већ могу да послуже и као превенција самог каријеса зуба пошто се ради о сличним патофизиолошким механизмима поремећаја равнотеже реминерализације и деминерализације.

Спровођењем планираног истраживања сагледаће се не само проблем у својој цјелокупности већ ћемо добити и одговор да ли и колико ксилитол и стевиа који су природни заслађивачи врше реминерализацију кариозне лезије.

### Цитирана литература у поглављу преглед истраживања

[1] NCHS: Consumption of Sugar Drinks in the United States, 2005–2008, NCHS Data Brief, 2011.

[2] Suglia, SF, Sara Solnick, S., Hemenway D. Soft Drinks Consumption Is Associated with Behavior Problems in 5-Year-Olds, *The Journal of Pediatrics* (www.jpeds.com), DOI 10.1016/j.jpeds.2013.06.023.

[3] Murray R., Frankowski B., Taras H. Are soft drinks a scapegoat for childhood obesity? *The Journal of Pediatrics*, 2005; 146 (5): 586 DOI:10.1016/j.jpeds.2004.12.018.

[4] Wang YL, Chang CC, Chi CW, Chang HH, Chiang YC, Chuang YC, Chang HH, Huang GF, Liao YS, Lin CP. *J Formos Med Assoc.* 2014 Nov;113(11):850-6. doi: 10.1016/j.jfma.2014.06.002. Epub 2014 Jul 4.

[5] Sari ME, Erturk AG, Koyuturk AE, Bekdemir Y. Microsc Evaluation of the effect of food and beverages on enamel and restorative materials by SEM and Fourier transform infrared spectroscopy. *Res Tech.* 2014 Jan;77(1):79-90. doi: 10.1002/jemt.22315. Epub 2013 Nov 12.

[6] Barbour ME, Lussi A. Erosion in relation to nutrition and the environment. *Monogr Oral Sci.* 2014;25:143-54. doi: 10.1159/000359941. Epub 2014 Jun 26.

[7] Jendsdottir T, Holbrook P, Nauntofte B, Buchwald C, Bardow A. Immediate erosive potential of cola drinks and orange juices. *J Dent Res.* 2006 Mar;85(3):226-30.

[8] Jain P, Nihill P, Sobkowski J, Agustin MZ. Commercial soft drinks: pH and in vitro dissolution of enamel. *Gen Dent.* 2007 Mar-Apr;55(2):150-4; quiz 155, 167-8.

[9] Мирјанић Ђ. Атомска микроскопија наноструктуре глеђи, магистарски рад Медицински факултет Бања Лука 2012.

[10] Barbour ME, Lussi A, Shellis RP. Screening and prediction of erosive potential. *Caries Res.* 2011;45 Suppl 1:24-32. doi: 10.1159/000325917. Epub 2011 May 31.

[11] Agrawal N, Shashikiran ND, Singla S, Ravi KS, Kulkarni VK. Atomic force microscopic comparison of remineralization with casein-phosphopeptide amorphous calcium phosphate paste, acidulated phosphate fluoride gel and iron supplement in primary and permanent teeth: An in-vitro study. *Contemp Clin Dent.* 2014 Jan;5(1):75-80. doi: 10.4103/0976-237X.128672.

[12] Sari ME, Erturk AG, Koyuturk AE, Bekdemir Y. Evaluation of the effect of food and beverages on enamel and restorative materials by SEM and Fourier transform infrared spectroscopy. *Microsc Res Tech.* 2014 Jan;77(1):79-90. doi: 10.1002/jemt.22315. Epub 2013 Nov 12.

- [13] Sener Y, Botsali MS, Kucukyilmaz E, Tosun G, Altunsoy M. Influence of soft drinks on dental enamel: An *in vitro* study. *J Pediatr Dent* [serial online] 2013 [cited 2015 Apr 18];1:42-5. Available from: <http://www.jpediatrdent.org/text.asp?2013/1/2/42/117445>
- [14] Kemaloglu H, Atalayin C, Tezel H. Scanning Electron Microscopy Investigation of Enamel Surface Treated with Different Bleaching Agents. *Dentistry* 2014; 4: 222. doi:10.4172/2161-1122.1000222
- [15] Pollyana S. Castro, Luiza M. F. Dantas, Alexander C. Nishida, Carlos E. Francci and Mauro Bertotti Probing the Enamel Topography After Acid Erosion by Scanning Electrochemical Microscopy *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7 (2012) 12720 - 12729
- [16] Sauro S, Mannocci F, Piemontese M, Mongiorgi R. In situ enamel morphology evaluation after acidic soft drink consumption: protection factor of contemporary toothpaste. *Int J Dent Hyg.* 2008 Aug;6(3):188-92. doi: 10.1111/j.1601-5037.2008.00313.x.
- [17] Kakaboura A, Fragouli M, Rahiotis C, Silikas N. *Evaluation of surface characteristics of dental composites using profilometry, scanning electron, atomic force microscopy and gloss-meter.* *J Mater Sci Mater Med.* 2007;18:155–163.
- [18] Bozec L, de Groot J, Odlyha M, Nicholls, B Horton, MA. *Mineralised tissues as nanomaterials: Analysis by atomic force microscopy.* *IEEE Proc. Nanobiotechnol.* 2005;152:183–186.
- [19] Higham SM, Pender N, de Josselin de Jong E, Smith PW. *Application of biophysical technologies in dental research.* *Journal of Applied Physics* 2009;105:102048.
- [20] Schmidlin PR, Gohrinng TN, Schug J, Lutz F. *Histological, morphological, profilometric and optical changes of human tooth enamel after microabrasion.* *American Journal of Dentistry* 2003;16:4A–8A.
- [21] Poggio C et al. *Impact of two toothpastes on repairing enamel erosion produced by a soft drink: an AFM in vitro study.* *Journal of Dentistry* 2010; **38(11)**: 868-874. doi: 10.1016/j.jdent.2010.07.010.
- [22] Lombardini M, Ceci M, Colombo M, Bianchi S, Poggio C. Preventive effect of different toothpastes on enamel erosion: AFM and SEM studies *Scanning.* 2014 Jul-Aug;36(4):401-10. doi: 10.1002/sca.21132. Epub 2013 Dec 11.
- [23] Rezvani MB, Karimi M, Akhavan Rasoolzade R, Haghgoo R. Comparing the Effects of Whey Extract and Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP) on Enamel Microhardness. *J Dent (Shiraz).* 2015 Mar;16(1):49-53.
- [24] Mäkinen KK. Suger alcohols, caries incidence and remineralization of caries lesions: a literature review, *Int. J. of Dent.*, 2010, doi: 10.1155/2010/981072
- [25] Silva TC i sar. The use of xylitol as a strategy for prevention of dental caries. *Rev.odonto ciencia.* 2009; 24:205-212
- [26] Mäkinen KK. Biochemical principles of the use of xylitol in medicine and nutrition with special consideration of dental aspects. Birkhäuser Verlag, Basel, 1971.
- [27] M.A.B. Cardello, M.A.P.A. Da Silva, M.H. Damasio Measurement of the relative sweetness of stevia extract, aspartame and cyclamate/saccharin blend as compared to sucrose at different concentrations. *Plant Foods for Human Nutrition* 1999; 54(2): 119–129. doi:10.1023/A:1008134420339.

[28] Abdullateef RA., Osman M. Studies on effects of pruning on vegetative traits in *Stevia rebaudiana* Bertoni (Compositae). *International Journal of Biology* 2012;4(1).doi:10.5539/ijb.v4n1p146.

[29] Koyama, E., et al. In vitro metabolism of the glycosidic sweeteners, stevia mixture and enzymatically modified stevia in human intestinal microflora. *Food and Chemical Toxicology* 2003; 41.3359–374.

[30] Chatsudthipong, V.; Muanprasat, C. Stevioside and related compounds: therapeutic benefits beyond sweetness. *Pharmacol Ther* January 2009; 121(1): 41–54.doi:-10.1016/j.pharmthera.2008.09.007.

[31] Brambilla E, Cagetti M.G, Ionescu A, Campus G, Lingström P. An in vitro and in vivo Comparison of the Effect of *Stevia rebaudiana* Extracts on Different Caries-Related Variables: A Randomized Controlled Trial Pilot Study, *Caries Res* 2014; 48:19-23 (DOI:10.1159/000351650)

[32] Pawar RS, Krynitsky AJ, Rader JI. Sweeteners from plants--with emphasis on *Stevia rebaudiana* (Bertoni) and *Siraitia grosvenorii* (Swingle). *Anal Bioanal Chem*. 2013 May;405(13):4397-407. doi: 10.1007/s00216-012-6693-0. Epub 2013 Jan 23.

[33] Brahmachari G, Mandal LC, Roy R, Mondal S, Brahmachari AK. Stevioside and related compounds - molecules of pharmaceutical promise: a critical overview. *Arch Pharm (Weinheim)*. 2011 Jan;344(1):5-19. doi: 10.1002/ardp.201000181. Epub 2010 Nov 25.

### 3. ОЦЈЕНА И ПРИЈЕДЛОГ

На основу увида у досадашњи научни рад кандидата и приложену документацију, биографију и библиографију, закључујемо да, кандидат мр Ђорђе Мирјанић, испуњава све прописане услове за одобрење теме за израду докторске тезе у складу са важећим прописима Закона о Универзитету и како је предвиђено Статутом Универзитета у Бањој Луци. Кандидат је показао способност да јасно дефинише актуелни проблем и циљеве научног истраживања, да влада дизајном истраживања и избором методологије научно истраживачког рада, те га Комисија сматра квалификованим за израду докторске тезе.

Истраживање је планирано уз примјену етичких, законских и научноистраживачких начела. Радна хипотеза и циљеви су јасно дефинисани. Истраживање обухвата методе које су данас веома актуелне у свијету.

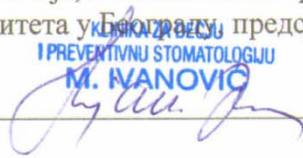
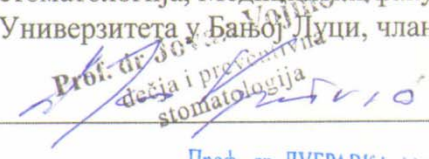
Комисија сматра да постоје стручни услови да кандидат може успјешно реализовати све постављене захтјеве везане за израду докторске тезе, добити значајне и поуздане резултате. Предложена тема је актуелна и недовољно истражена у нашим здравственим установама.

Приједлог теме докторске дисертације кандидата, мр Ђорђа Мирјанића под називом "Ефикасност природних заслађивача у заштити зубне глеђи од газираних напитака" задовољава све критеријуме за пријаву теме докторске дисертације. На

основу детаљне анализе пријаве докторске дисертације, чланови Комисије упућују позитивну оцјену Наставно-научном вијећу Медицинског факултета Универзитета у Бањој Луци и Сенату Универзитета у Бањој Луци, и са задовољством предлажу да се позитивна оцјена, прихвати и одобри, те покрене даљи поступак израде докторске дисертације мр Ђорђа Мирјанића.

Београд, Бања Лука, Нови Сад,  
јун 2015.

#### ПОТПИС ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ

1. Др Мирјана Ивановић, редовни професор,  
ужа научна област Дјечија и превентивна  
стоматологија, Стоматолошки факултет  
Универзитета у Београду, предсједник  
И PREVENTIVNU STOMATOLOGIJU  
M. IVANOVIC  

2. Др Јован Војиновић, редовни професор,  
ужа научна област Дјечија и превентивна  
стоматологија, Медицински факултет  
Универзитета у Бањој Луци, члан  
Prof. dr. Jovan Vojinovic  
djecija i preventivna  
stomatologija  

3. Др Дубравка Марковић, редовни професор,  
ужа научна област Протетика, Медицински  
факултет Универзитета у Новом Саду, члан  
Проф. др ДУБРАВКА МАРКОВИЋ  
специјалиста  
Протетика  
