

**Nastavno-naučnom vijeću Medicinskog fakulteta
Univerziteta u Banjoj Luci
Senatu Univerziteta u Banjoj Luci**

Odlukom Nastavno-naučnog vijeća Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci broj 18-3-734/2012 od 24.10.2012. godine, sa Sjednice Nastavno-naučnog vijeća Medicinskog fakulteta održane 24.10. 2012. godine, imenovana je Komisija za ocjenu podobnosti teme „EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU ZUBA PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1“ i kandidata mr sc. dr stom.Aleksandre Đeri, u sastavu:

1. dr Jovan Vojinović, vanredni profesor, uža naučna oblast: Preventivna i dječija stomatologija, Medicinski fakultet Univerziteta u Banjoj Luci, predsjednik komisije;
2. dr Slavoljub Živković, redovni profesor, uža naučna oblast: Bolesti zuba, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu, član;
3. dr Ivana Stojšin, docent, uža naučna oblast: Bolesti zuba, Medicinski fakultet Univerziteta u Novom Sadu, član.

Nakon detaljnog pregleda prijave doktorske disertacije i bibliografije kandidata mr sc. dr stom. Aleksandre Đeri, Komisija Nastavno-naučnom vijeću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci i Senatu Univerziteta u Banjoj Luci podnosi

**IZVJEŠTAJ O OCJENI PODOBNOSTI TEME
I KANDIDATA ZA IZRADU DOKTORSKE DISERTACIJE**

1. BIOGRAFSKI PODACI, NAUČNA I STRUČNA DJELATNOST KANDIDATA

Aleksandra Đeri, doktor stomatologije i magistar stomatoloških nauka, je rođena 16. 10. 1972. godine u Doboju, Bosna i Hercegovina. Osnovnu i srednju školu, Gimnaziju je završila u Doboju. Stomatološki fakultet u Beogradu je pohađala od 1993.godine do 1996. godine kada se prebacila na odsjek stomatologija Medicinskog fakulteta u Banjoj Luci i diplomirala 2001. godine sa prosječnom ocjenom 8,43(osam četrdeset tri).

Položila je specijalistički ispit 2005. godine i time stekla zvanje specijalista bolesti zuba i endodoncije. Poslijediplomske studije "Biomedicinska istraživanja" je upisala 2003. godine, završila ih sa prosječnom ocjenom deset (10) te 03. 10. 2008 godine. odbranila magistarski rad, iz uže naučne oblasti Bolesti zuba, pod nazivom " Ispitivanje krunicnog mikropropuštanja poslije endodontskog liječenja zuba ".

Od 2001. godine dr stom. Aleksandra Đeri je stalno zaposlena na Katedri za Bolesti zuba, na predmetima Bolesti zuba-klinika, Restaurativna odontologija, Pretklinička endodoncija, Klinička endodoncija, Rekonstrukcija teško oštećenih zuba, prvo kao asistent, a potom, od 2008. godine, kao viši asistent.

U periodu od 1996 godine do 2000 godine radila je kao demonstrator na predmetu Bolesti zuba-predklinika i Bolesti zuba-klinika.U toku studija bila je učesnik projekta nevladine organizacije WUS-Austrija pod nazivom“ Obuka studenata treće godine stomatologije za rad na FANTOM-u“ koji je proveden tokom 1998 godine.Takođe je bila učesnik projekta pod nazivom „ Procjena stanja oralnog zdravlja kod djece sa posebnim potrebama „ odobrenog od strane Ministarstva nauke i tehnologije Republike Srpske 2009 godine kao i učesnik workshop-a International Center for Dental Education „New trends in modern esthetic and restorative dentistry“Ivoclar Vivadent –LIECHTENSTEIN 2010 godine. Aktivno govori engleski jezik.

Kao autor i koautor objavila je 11 naučnih radova u cjelini i 11 kongresnih saopštenja.

Bibliografija:

Magistarska teza

„Ispitivanje krunicnog mikropropuštanja poslije endodontskog liječenja zuba ".
– odbranjeno 03. oktobra 2008 godine.

Originalni naučni radovi u časopisima međunarodnog značaja:

1. **Đeri A**, Sukara S, Arbutina R, Trnić Z, Gajić N: Ispitivanje kruničnog mikropropuštanja kod intaktnih i karioznih zuba opturiranih metodom lateralne kompakcije gutaperke, Stomatološki glasnik Srbije, 2008 (54): 99-106.
2. Gajić N, Kojić Ž, **Đeri A**, Arbutina R, Trnić Z: Uticaj svjetlosnog izvora sa smanjenom iradijansom na kvalitet rubnog zatvaranja kaviteta V klase, Stomatološki glasnik Srbije, 2008 (55): 229-237.
3. Gajić N, **Đeri A**, Kojić Ž, Trtić N: Uticaj halogenog svjetlosnog izvora na rubno zaptivanje kompozitnih ispuna, Stomatološki glasnik Srbije, 2010, 57 (1): 14-20.
4. **Đeri A**, Gajić N, Sukara S, Veselinović V, Ilić S: Uticaj sredstva za privremeno zatvaranje na kruničnu mikropropustljivost endodontski liječenih zuba, Stomatološki glasnik Srbije, 2010, 57 (2): 73-76.
5. Arbutina R, **Đeri A**, Gajić N, Trnić Z, Trtić N: Ispitivanje kvaliteta apeksnog zaptivanja kanala korijena zuba nakon primjene hemijski razmekšane gutaperke, Stom Glas S, vol. 58, 2011 58 (1), 29-34.
6. Sanja Ilić, **Aleksandra Đeri**, Ranka Knežević: Uticaj materijala koji sadrže epoksi smole ili kalcijum hidroksid na reparaciju periapikalnog tkiva; Scripta Medica; vol 43, 2012 :28-32

Originalni stručni radovi u časopisima međunarodnog značaja:

1. Sukara S, **Đeri A**, Nežić L. Analiza upotrebe lijekova u ambulancama opšte stomatologije; Medicina danas-pokret evropskih inicijativa Stručni časopis Medicina danas, Novi Sad. 2007;6(1-2):III
2. Veselinović V., Marković D., Čupić S., **Đeri A.**, Mogućnosti protetske terapije u rješavanju slučajeva bimaksimalnog prognatizma-prikaz slučaja, Stomatološki informator, Novi Sad 2011; 21-27

Originalni stručni radovi objavljeni u zborniku radova na naučnim skupovima u cjelini:

1. Živković S, Gajić N, **Đeri A**, Arbutina R: Uticaj svjetlosnog izvora na kvalitet polimerizacije kompozitnih adhezivnih sistema, Contemporary Materials 2010; 1(2):567-576.
2. O. Janković, I. Kuzmanović Radman, **A. Đeri**, T. Risović, V. Mirjanić. Postrestaurativna osjetljivost zuba nakon primjene različitih adhezivnih sredstava. Zbornik radova naučnog skupa „Savremeni materijali“, Banjaluka 2011, Akademija nauka i umjetnosti Republike Srpske.
3. I. Kuzmanović Radman, O. Janković, **A. Đeri**, V. Mirjanić. Kliničko ispitivanje dubokih karioznih lezija primjenom kalcijum hidroksida. Zbornik radova naučnog skupa „Savremeni materijali“, Banjaluka 2011, Akademija nauka i umjetnosti Republike Srpske.

Kongresna saopštenja:

1. **Đeri A**, Sukara S. Bruxism-psyhosomatic illness Abstract book 11th Congres of the BaSS, maj 2006 Sarajevo, BiH
2. **Đeri A**, Lukač T, Latinović-Tadić LJ, Nežić L: Eksperimentalna osteoporoza mandibule i efikasnog antiresorptivne terapije

Mandibular bone loss in experimental osteoporosis and efficacy of anti-resorptive treatments;

Abstract book 12th Congres of the BaSS, april 2007 Istanbul, Turkiye

3. **Đeri A**, Živković S, Arbutina R, Gajić N, Trnić Z: Krunično mikropropuštanje kod intaktnih i karioznih zuba opturiranih pastom AH26; II kongres stomatologa; oktobar 2007 Banja Vrućica-Teslić, BiH

4. Gajić N., **Đeri A.**: Svjetlosna polimerizacija nanohibridnih i hibridnih kompozitnih materijala; Treći stomatološki dani BiH sa međunarodnim učešćem ; oktobar 2009 Sarajevo, BiH

5. Radman I., Vuković S., **Đeri A.**, Sukara S: Upotreba dentin adhezivnih sredstava kod kompozitnih ispuna; Naučni skup pri Akademiji nauka: Savremeni materijali 2009; Banja Luka, BiH

6. Živković S., Gajić N., **Đeri A.**, Arbutina R., Trnić Z.: Uticaj svjetlosnog izvora na kvalitet polimerizacije kompozitnih adhezivnih sistema; Naučni skup pri Akademiji nauka: Savremeni materijali 2009; Banja Luka; BiH

7. Radman I., **Đeri A.**, Veselinović V., Čaurović A: Analiza postoperativne osjetljivosti nakon upotrebe različitih adhezivnih sistema kod kompozitnih restauracija 4. Međunarodni Quintessence Congress, Zagreb 8-10 novembar 2009

8. Sukara S., Vojinović J., Dolić O., Obradović M. **Đeri A** : Knowledge and attitudes towards preventive dental care among dentists.

The 15-th Congress of BaSS. Thessaloniki, April 2010, Abstract book p 464.

9. Gajić N, **Đeri A**: Svjetlosna polimerizacija hibridnih i nanohibridnih kompozitnih materijala, III Stomatološki dani BiH sa međunarodnim učešćem, oktobar, Sarajevo, 2009, knjiga sažetaka PP 17 (str. 44) .

10. Gajić N, **Đeri A**, Josipović R, Trnić N, Kojić Ž: The influence of light sources on the composite materials polymerization, The 15th Congress of the BaSS, Thessaloniki, Greece, April 2010, Abstract book PP 277.

Ilić S, **Đeri A**, Božić D, Knežević R, Risović T, Arbutina R, Gajić N: Biomaterijali u endodonskoj terapiji i njihov uticaj na periapikalno tkivo, Savremeni materijali, Banjaluka, juli 2011

Mentor studentskog rada:

Branka Dolić, Maja Bogdanović, Dunja Mrkalj, Biljana Čavka, Sasa Hasić. *Evaluacija endodontskog liječenja pacijenata na petoj godini stomatologije u Banjaluci.*

Treći stomatološki dani BiH i prvi kongres studenata stomatologije s međunarodnim učešćem, od 8. do 10. oktobra 2009. godine, Sarajevo

2.ZNAČAJ I NAUČNI DOPRINOS ISTRAŽIVANJA

Značaj istraživanja

Dugi niz godina su ljekari, fokusirani na druge komplikacije dijabetesa, zapostavljali komplikacije koje su se javljale u oralnoj duplji. Posebno značenje za stomatologe ima uticaj dijabetesa na oboljenja zubnih tkiva i desni koja obično dovode do gubitka zuba. Gubitak zuba i problemi vezani sa nošenjem proteza, često vode do štetnih posljedica, uključujući probleme u ishrani, psihosocijalne probleme, i konačno pogoršanja zdravstvenog stanja i kvaliteta života.

Za povećanje broja oralnih oboljenja, kod ljudi sa dijabetesom, odgovorni su brojni faktori ali prije svega hiperglikemija i mikrovaskularni poremećaji. Mikrocirkulacija pulpe je također važan dinamičan sistem koji reguliše metaboličke procese zuba uključujući naravno i dentinogenezu. Adekvatna cirkulacija u pulpi obezbjeđuje i kvalitetan odgovor pulpe na različite nadražaje. Na krvne sudove pulpe utiču brojni neurogenetski faktori kao i fizičko-hemijski faktori koji mogu uticati na odbrambene reakcije pulpo-dentinskog kompleksa. Uprkos brojnim istraživanjima kod dijabetičara ni do danas nije potpuno razjašnjen mehanizam pulpnog odgovora na nadražaje. Razloga je puno ali su to prije svega tehničke poteškoće u analizi krvnih sudova pulpe koji su malih dimenzija i zatvoreni između čvrstih i rigidnih zidova pulpne šupljine. Mineral trioksid agregat je materijal koji je zadnjoj deceniji pokazao snažan efekat u stimulanju dentinogeneze i superiornost kao sredstvo za prekrivanje pulpe u odnosu na kalcijum hidroksid. Postoje i navodi da MTA stimuliše mineralizaciju tokom stvaranja dentinskog mosta. Sposobnost MTA da podstakne reparativnu dentinogenezu je dosljedno potvrđena u brojnim studijama na životinjama kod kojih je pulpa mehanički eksponirana i potom prekrivena sa MTA. Uočeno je da ubrzo poslije aplikacije dolazi do ograničene nekroze pulpe koja je mnogo manja od nekroze koju izaziva kalcijum hidroksid. Potvrđeno je također da MTA izaziva opsežniju dentinogenezu i indukuje strukturalno superiorniji dentinski most u odnosu na kalcijum hidroksid.

S druge strane, mehanizmi na celularnom i molekularnom nivou reparativne dentinogeneze

indukovane sa MTA su ostali nerazjašnjeni što je dijelom posljedica ograničenog broja *in vivo* studija.

Istraživanja u ovoj studiji dala bi odgovor na pitanja:

- kakav je uticaj ekstraćelijskog proteina fibronektina u procesu reparativne dentinogeneze kod oboljelih od dijabetes mellitusa

- koji od ispitivanih materijala (mineral trioksid agregat ili kalcijum hidroksid) je superiorniji kod direktnog prekrivanja pulpe kod oboljelih od diabetes mellitusa

- koji je intenzitet odontogeneze 15-og i 30-og dana od postavljanja sredstva za direktno prekrivanje pulpe

Ovim istraživanjem bi se razjasnili ćelijski mehanizmi u toku reparativne dentinogeneze koji su još uvijek nedovoljno poznati, praktičarima ponudio adekvatan materijal za direktno prekrivanje pulpe, a oboljelim osobama od diabetes mellitusa obezbijedila efikasnija stomatološka zaštita. Dobijeni rezultati ovog istraživanja imaće svoju kliničku primjenu i predstavljaju nesumnjiv doprinos u razumijevanju mikrovaskularnih promjena na pulpi zuba kod oboljelih od dijabetesa.

Pregled istraživanja

U poglavlju Pregled istraživanja Prijave doktorske disertacije jasno su i logičkim slijedom opisani osnovni pojmovi o problemu koji se istražuje, te predstavljen značaj diabetes mellitusa i njegov uticaj na mikrocirkulaciju pulpe i na bioreaktivnost pulpe.

Posebno je detaljno opisana opšta epidemiologija diabetes mellitusa sa naglaskom na tendenciju porasta oboljenja u svijetu a zatim i epidemiologija oralnih oboljenja s ciljem da se podigne svijest i naglasi značaj ovog problema. Kandidat ukazuje da je povezanost dijabetes mellitusa i zubnog karijesa jasno potvrđena i detaljno opisuje i druge oralne manifestacije bolesti. Pored zubnog karijesa navode se suvoća usta, lichen planus, gingivitis i periodontitis.

Osobe koje boluju od dijabetes mellitusa imaju redukovano lučenje pljuvačke što povećava rizik od hipomineralizacije gleđi i nastanka karijesa. Incidenca karijesa i periodontitisa kod pacijenata sa diabetes mellitusom je tolika da su sve češći zahtjevi stomatološke struke da se oralna oboljenja dodaju kao komplikacije dijabetesa.

U radu se ukazuje na značaj vitalnosti zubne pulpe a time i na značaj stomatoloških procedura i materijala koji se koriste kod direktnog prekrivanja pulpe. Takođe je detaljno opisana

patofiziologija diabetes mellitusa i mikrovaskularni poremećaji.

U ovom poglavlju kandidat opisuje reparativnu sposobnost pulpe: Za razliku od patogeneze većine oboljenja u usnoj duplji, patogeneza pulpitisa kod osoba koje boluju od dijabetesa je nedovoljno poznata. Diabetes mellitus može da utiče na zacjeljivanje pulpe koja je najčešće ugrožena bakterijama iz duboke karijesne lezije.

Pulpa je dobro vaskularizovano vezivno tkivo koje ima dobru reparatornu sposobnost kao odgovor na povrede. U odsustvu bakterijske infekcije pulpa ima ogroman reparativni potencijal koji dovodi do formiranja dentinskog mosta.

Mehanizmi koji dovode do diferenciranja ćelija u odontoblaste, tokom reparativne dentinogeneze, u odsustvu bazalne membrane i dentalnog epitela je još uvijek nerazjašnjen. Tokom stvaranja dentinskog mosta, odontoblasti sintetišu nekolagene supstance koje sekretuju u dentinski ekstracelularni matriks.

Fibronektin je ekstarcelularni glikoprotein matriksa koji se distribuira u tkivo i u krv. Molekuli fibronektina su upleteni u različite ćelijske funkcije uključujući adheziju, migraciju i diferencijaciju.

Tokom razvoja zuba, diferencijacija odontoblasta je kontrolisana od strane specifične bazalne membrane koja posreduje u epitelijalno-mezenhimalnom razvoju. Neka istraživanja ukazuju na prisustvo i vezu fibronektina i ove bazalne membrane koji imaju ključnu ulogu u diferencijaciji odontoblasta. Smatra se da fibronektin i bazalna membrana posreduju u izduživanju i polarizaciji odontoblasta, transmembranskom interakcijom. Ova saznanja ukazuju na moguću ulogu fibronektina u sekundarnoj inicijaciji diferencijacije odontoblastoidnih ćelija. Povezanost fibronektina i reparativne dentinogeneze je još uvijek predmet brojnih istraživanja.

Reparativna dentinogeneza je u osnovi posljedica direktnog prekrivanja pulpe odgovarajućim medikamentima koji treba da dodatno stimulišu reparatorne procese.

U završnom dijelu ukazano je na činjenicu da je mehanizam nastanka karijesa, gingivitisa, periodontitisa, kserostomije i oralnih infekcija kod dijabetičara uglavnom poznat, a da odbrambena reakcija pulpe i odontoblasta na karijes nije poznata i još uvijek predstavlja izazov za istraživače.

Radna hipoteza sa ciljem istraživanja

Nakon detaljnog pregleda publikacija, definisanja problema i pravca istraživanja, kandidat mr sci. dr stom. Aleksandra Đeri je jasno postavila hipotezu istraživanja. U istraživanju se polazi od radnih hipoteza da poremećaj cirkulacije u pulpi kod diabetes mellitus tipa 1, dovodi do smanjene reaktivnosti odontoblasta pulpe i stvaranja inkompletnog dentinskog mosta. MTA je superiorniji materijal za direktno prekrivanje pulpe od $\text{Ca}(\text{OH})_2$, kod oboljelih od dijabetesa. Nivo šećera u krvi je u direktnoj korelaciji sa intenzitetom stvaranja reaktivnog dentina kod oboljelih od dijabetesa. Fibronektin je senzitivni biomarker za detekciju diferencijacije odontoblasta tokom dentinogeneze. Kako bi dokazala radne hipoteze, kandidat mr sci. dr stom. Aleksandra Đeri je jasno postavila sljedeće ciljeve istraživanja.

OSNOVNI CILJ ovog istraživanja je da se provjeri biološki odgovor pulpe zuba pacova sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tipa 1 nakon direktnog prekrivanja mineral trioksid agregatom (MTA) i kalcijum hidroksidom ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) i da se imunohistohemijskom analizom provjeri prisustvo i efekat fibronektina kao direktnog pokazatelja diferencijacije odontoblastoidnih ćelija kod eksperimentalne i kontrolne grupe nakon direktnog prekrivanja pulpe pacova mineral trioksid agregatom (MTA) i kalcijum hidroksidom ($\text{Ca}(\text{OH})_2$)

Imajući u vidu potrebu naučne verifikacije definisani su bliži ciljevi istraživanja: da se histološkom analizom provjeri efekat MTA nakon direktnog prekrivanja pulpe zdravih pacova Wistar soja, poslije 14 i 30 dana, da se histološkom analizom provjeri efekat $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nakon direktnog prekrivanja pulpe zdravih pacova Wistar soja, poslije 14 i 30 dana, da se histološkom analizom provjeri efekat MTA nakon direktnog prekrivanja pulpe pacova Wistar soja sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tipa 1, poslije 14 i 30 dana, da se histološkom analizom provjeri efekat $\text{Ca}(\text{OH})_2$ nakon direktnog prekrivanja pulpe pacova Wistar soja sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tipa 1, poslije 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 imunohistohemijskom analizom provjeri prisustvo fibronektina 14 i 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe zdravih pacova Wistar soja sa MTA, da se imunohistohemijskom

analizom provjeri prisustvo fibronektina 14 i 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe zdravih pacova Wistar soja sa Ca(OH)_2 , da se imunohistohemijskom analizom provjeri prisustvo fibronektina 14 i 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe pacova Wistar soja sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tip 1 sa MTA i da se imunohistohemijskom analizom provjeri prisustvo fibronektina 14 i 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe pacova Wistar soja sa eksperimentalno izazvanim diabetes mellitusom tip 1 sa Ca(OH)_2

Materijali i metod rada

Dizajn istraživanja, faze istraživanja, pregledi, neophodne analize i metodologija rada su jasno opisani i odabrani u skladu sa važećim standardima i normama. Mjesta predloženog ispitivanja Vivarijum Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Banjoj Luci i Zavod za patologiju Kliničkog centra u Banjoj Luci omogućava nesmetanost u provođenju istraživanja.

U istraživanju su planirana 32 labaratorijska pacova Wistar soja(64 prva gornja molara), zbog velike sličnosti u fiziologiji pulpe zuba pacova sa fiziologijom pulpe humanih zuba, iako stopa reparativne dentinogeze može biti različita. Zatim, ovo je dosta korišten model u studijama jer usvojena procedura dozvoljava eksponiranje pulpe uparenih zuba bez kontaminacije pljuvačkom ili bakterijama usne duplje.

Uslovi eksperimenta: Životinje će biti stare dva mjeseca a tjelesna težina će iznositi 150-200gr. Pacovi će imati slobodan pristup hrani i vodi tokom trajanja eksperimenta i 12-to časovnu smjenu svjetla i mraka. Temperatura vazduha će se kretati $20-23^{\circ}\text{C}$ a vlažnost $60\% \pm 10\%$.

Opšta anestezija: Životinje će biti uvedene u opštu anesteziju prije provođenje stomatološke procedure direktnog prekrivanja pulpe. Kao opšti anestetik upotrebljavaće se Ketamin(KETAMINE HYDROCHLORIDE INJECTION USP); Rotexmedica-Germany.

Eksperimentalne grupe:

A GRUPA: Pacovi sa eksperimentalno indukovanim DIABETES MELITTUS-om (n=16)

Diabetes melittus će biti indukovan ALLOXAN MONOHYDRATE-om(Acros organics; New Jersey, USA)

Protokol za eksperimentalno indukovani diabetes melittus-Alloxan:

- 16 pacova će biti izmjereno i njihove tjelesne težine će biti zabilježene
 - svakoj životinji će biti određen nivo šećera u krvi prije početka eksperimenta
 - glikemija će se mjeriti dobijanjem krvi iz vene repa pomoću aparata za mjerenje glikemije ACCU CHEK, Roche
 - Rastvor Alloxan-a će se dobiti rastvaranjem 100ml praha u 10 ml fiziološkog rastvora.
 - Rastvor će se davati intraperitonealno u dozi 100 mg na kilogram tjelesne težine pacova.
 - Protokol će se ponavljati sve dok izmjerena vrijednost glikemije ne pređe 200mg/dcl kada se smatra da je životinja u hiperglikemiji.
 - biće neophodna kontrola glikemije jer uništavanje beta ćelija pankreasa Alloxan-om u navedenoj koncentraciji je reverzibilan proces
 - hiperglikemija će se održavati do kraja eksperimenta
 - 8 pacova će biti žrtvovano 15-og dana od direktnog prekrivanja pulpe sa
MTA (n=4) i Ca(OH)₂ (n=4)
 - 8 pacova će biti žrtvovano 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe sa MTA(n=4) i
Ca(OH)₂ (n=4)
- B GRUPA: Zdrave životinje(n=16)**
- 8 pacova će biti žrtvovano 15-og dana od direktnog prekrivanja pulpe sa
MTA (n=4) i Ca(OH)₂ (n=4)
 - 8 pacova će biti žrtvovano 30-og dana od direktnog prekrivanja pulpe sa MTA(n=4) i
Ca(OH)₂ (n=4)
- Kao pozitivna kontrola služiće 10 zuba koji nisu tretirani a kao negativna kontrola služiće 10 trepaniranih zuba čije krunice nisu restaurirane nikakvim materijalom.
- Stomatološka procedura- Direktno prekrivanje pulpe sa MTA i Ca(OH)₂:

Stomatološka procedura obuhvata preparaciju kaviteta na prvim gornjim molarima(i na lijevoj i na desnoj strani)kod svih eksperimentalnih životinja ,sa trepanacijom krova Cavuma pulpe i postavljanjem materijala za direktno prekrivanje.Kaviteti će biti restaurirani kompozitom .

Prije pristupa preparaciji, zube treba očistiti mehanički-malom četkicom i hemijski 5% natrijum-hipohloritom(NaOCl).Dezinfekcija će se vršiti chlorhexidine digluconate(0.1% Chlorhexamed-Fluid,GlaxoSmithK ,Buhl,Germany).Zbog anato-morfoloških osobina zuba pacova kod kojih su molari postavljeni daleko iza sjekutića pristup je dosta otežan i sužena je vidljivost.Takođe, veličina zuba otežava preparaciju pa će biti korištena lupa (magnification:X4.5,Zeiss,Germany).Okluzalni kaviteti će biti preparisani na nekarioznim prvim gornjim molarima uz korištenje tehničkog motora i cilindričnog svrdla ISO 008.Kaviteti će biti preparisani uz stalno vodeno hlađenje sve do krova pulpne komore.Perforacija na krovu komore će biti urađena oštrom stomatološkom sondom do pojave krvarenja.Pulpalna krv će se ukloniti sterilnim papirnim apoenima.Zatim će se vršiti ispiranje kaviteta fiziološkim rastvorom u cilju uklanjanja ostataka krvi i dentinske prašine.

Nakon sprovedene preparacije kaviteta biće postavljeno sredstvo za direktno prekrivanje a kaviteti će biti restaurirani kompozitom.

DIZAJN STUDIJE

1. FAZA

Pripremanje postavljanja eksperimenta:

- sve životinje će biti izmjerene i njihova tjelesna težina zabilježena
- svim životinjama ćemo izmjeriti glikemiju i vrijednosti zabilježiti kao referentne
- obezbijediće se uslovi životinjama za nesmetan pristup hrani i vodi
- obezbijediće se potrebna temperaturai vlažnost
- držaće se 2 životinje po kavezu

2. FAZA

- kavezi u kojima su životinje kod kojih će biti indukovani diabetes mellitus tip 1 biće posebno obilježeni oznakom ALL
- sprovede se protokol za indukciju dijabetesa ALLOXAN-om
- kontrolisaće se i mjeriti nivo šećera u krvi (ACCU- CHEK, Roche, Germany)
- do završetka eksperimenta održavaće se glikemija iznad 200mg/dcl

Nakon postignute hiperglikemije životinje će biti podvrgnute proceduri direktnog prekrivanja pulpe na način kako je opisano u poglavlju materijal i metode. Istoj proceduri će se podvrgavati i zdrave životinje.

3. FAZA-direktno prekrivanje pulpe

- životinje će biti uvedene u opštu anesteziju (Ketamin) i fiksirane za drvenu podlogu
- nakon inspekcije oralne duplje pacova utvrdiće se da li zubi imaju karijesa, jer se procedura može sprovesti samo na nekarioznim zubima
- prije nego što će se preparirati, zubi će biti očišćeni mehanički malom četkicom i hemijski 5% natrijum hipohloritom a za dezinfekciju će se koristiti chlorhexidine diglukonate
- preparacija kaviteta će se vršiti na mezijalnoj strani prvog lijevog i desnog molara gornje vilice, cilindričnim svrdlom ISO 008 (tehnički motor)
- perforacija krova cavuma pulpaee će se vršiti ručno stomatološkom sondom
- nakon perforacije će biti urađena mehaničko-hemijska hemostaza
- MTA i Ca(OH)_2 kao sredstva za direktno prekrivanje, će se aplicirati na perforacioni otvor
- zubi će se restaurirati kompozitnim materijalima

4. FAZA

-U ovoj fazi je predviđeno žrtvovanje životinja eterom u dva navrata:

15-og dana: 8 pacova sa postavljenim MTA(4 zdrave i 4 dijabetične životinje), 8 pacova sa

postavljenim Ca(OH)₂(4 zdrave i 4 dijabetične životinje)

30-og dana : 8 pacova sa postavljenim MTA(4 zdrave i 4 dijabetične životinje), 8 pacova sa postavljenim Ca(OH)₂(4 zdrave i 4 dijabetične životinje)

-nakon žrtvovanja odvajće se gornje vilice hirurškim skalpelom i makazama i čuvaće se u 10% neutralnom puferovanom formalinu

5. FAZA

U ovoj fazi eksperimenta materijal se dostavlja Zavodu za patologiju Kliničkog centra u Banjaluci, gdje će se vršiti priprema materijala za patohistološku i imunohistohemijsku analizu.**PATOHISTOLOŠKA ANALIZA:**Priprema materijala će početi sa dekalifikacijom viličnih kostiju u EDTA(etilen-diamino-tetraciklin-acetat) u trajanju od 3 sata nakon čega će se presjeci pulpe kalupiti u parafinske blokove.Rezanje će se vršiti mikrotomom na svakih 4μm.Bojenje presjeka je predviđeno metodom bojenja hematoksilin-eozin.Kvalitativna kvantifikacija mikroskopskih preparata će biti obavljena od strane jednog patologa elektronskom mikroskopijom.Kvantifikacija će se vršiti na osnovu skale predložene od strane Dammaschke T i saradnika

1- odsustvo bakterija

2- prisustvo bakterija u 1/3 pulpe zuba

3- prisustvo bakterija u 2/3 pulpe zuba

4- difuzno prisustvo bakterija u pulpi

IMUNOHISTOHEMIJSKA ANALIZA (IHH):Imunohistohemijska analiza se odnosi na proces lokalizacije specifičnih antigena u tkivu, pomoću ciljno usmjerenih antitijela, koristeći osnovni princip u imunologiji da se određeno antitijelo veže i prepoznaje samo ciljni antigen.IHH omogućava vizuelizaciju biomarkera i ekspresiju pojedinih proteina u različitim tkivima.Za IHH ispitivanja će se koristiti isti presjeci zubne pulpe kao za patohistološku analizu.Presjeci zuba debljine 3-4μm će biti podvrgnuti deparafinizaciji(sa ksilolom i rehidracijom u silaznim koncentracijama alkohola),demaskiranju antigena i tretiranju odgovarajućim primarnim kao i ostalim reagensima u okviru standardnih IHH procedura, au

skladu sa uputstvima proizvođača antitijela(SIGMA –ALDICH)

Ukratko,za demaskiranje antigena presjeka zubne pulpe (fiksiranih formalinom) zahtijeva se kuhanje u 10 mM natrijevom citratu(Target Retrieval Solution,pH 6,ready- to- use, CodeNo.S 17000,DAKO Co,Denmark),u mikrotalasnoj peći dva puta po 10 minuta, a zatim hlađenje na sobnoj temperaturi tokom 20 minuta.Nakon toga, presjeci pulpe zuba će se isprati u rastvoru fosfatnog pufera (PBS) i inkubirati sa specifičnim antitijelom za fibronektin:**Anti-FNDC 3A(Anti-Fibronectin type III-domain containing protein 3A antibody produced in rabbit)-SIGMA-ALDICH**

Presjeci pulpe zuba će biti izloženi dejstvu antitijela 24 sata na 4 °C . Nakon ispiranja u PBS- u presjeci pulpe će biti inkubirani sa polimernim sistemom za vizuelizaciju kompleksa antigen-antitijelo (UltraVision One/HRP , proizvođač Lab Vision).Na ovaj način se omogućava vizuelizacija dentinskog mosta indukovano sredstvima za direktno prekrivanje pulpe.

Posljednji korak u ovoj fazi će biti kvantifikacija od strane istog patologa koji će vršiti patohistološku kvantifikaciju.Kvantifikacija će se vršiti po kodu predloženom od strane Bal-a i saradnika:

0 -nema imunoreaktivnosti

1- slab ali vidljiv intenzitet bojenja

2- umjeren intenzitet bojenja

3- jak intenzitet bojenja

6. FAZA -statistička obrada dobijenih rezultata

Naučni doprinos istraživanju

Uzimajući u obzir da je na ovim područjima jako mali broj eksperimentalnih studija koja se bave fundamentalnim istraživanjima i koji koriste sličnu metodologiju rada, kao i da u ukupnoj svjetskoj literaturi postoji veoma mali broj radova koji se bave problemom ćelijskih

mehanizama reparativne dentinogeneze pulpe osoba oboljelih od diabetes mellitusa, već su, uglavnom, bazirana na zdravu populaciju, u prijavljenoj doktorskoj tezi kandidat mr sci. dr stom Aleksandra Đeri bi upravo i trebala dati naučni doprinos istraživanju reparativne dentinogeneze na ćelijskom nivou u uslovima eksperimentalno izazvanog diabetes mellitusa. Ovim istraživanjem bile bi riješene brojne dileme vezane za direktno prekrivanje pulpe, terapeuti bi, na osnovu rezultata istraživanja, dobili značajne informacije o izboru materijala za direktno prekrivanje pulpe kod pacijenata sa diabetes mellitusom, a pacijentima bi se obezbijedila najefikasnija i najbezbednija primjena. Za očekivati je da će rezultati pokazati da je mineral trioksid agregat superiorniji materijal u odnosu na kalcijum hidroksid i da je reparativna dentinogeneza intenzivnija 15-og dana od postavljanja materijala za direktno prekrivanje nego 30-og kao i da je proces stvaranja terciarnog dentina uspješniji kod kontrolne grupe odnosno kod zdravih jedinki. S obzirom na to da slična istraživanja nisu sprovedena na ovim područjima, a diabetes mellitus je vodeći problem zdravstva čitavog svijeta pa i kod nas, ovo istraživanje bi moglo ukazati na važnost razumijevanja procesa reparativne dentinogeneze kod osoba oboljelih od dijabetesa i na važnost očuvanja oralnog zdravlja istih. Dobijeni rezultati mogu naći svoju primjenu i dati značajan doprinos, kako u unapređenju daljnjih naučnih istraživanja u oblastima restaurativne stomatologije, tako i u unapređenju kvaliteta svakodnevne kliničke prakse.

OCJENA I PRIJEDLOG

Na osnovu uvida u rad kandidata, priloženu dokumentaciju, biografiju kandidata i spisak objavljenih radova, zaključujemo da kandidat mr sci. dr stom. Aleksandra Đeri ispunjava sve uslove za odobrenje teme za izradu doktorske disertacije u skladu sa važećim propisima, a posebno sa članom 58, Zakona o Univerzitetu i Statutom Univerziteta u Banjoj Luci. Kandidat Aleksandra Đeri je vrijedan i cijenjen član Katedre za bolesti zuba na Medicinskom fakultetu, Univerziteta u Banjoj Luci. Vremenom je dokazala da može samostalno učestvovati u planiranju naučnih projekata, te je zbog toga Komisija smatra kvalifikovanom za stručni i naučni rad.

Predložena tema je aktuelna, nedovoljno istražena i zanimljiva kako sa naučnog stanovišta, tako i sa stanovišta mogućnosti primjene.

Navedene metode istraživanja predstavljaju moderne i pouzdane tehnike istraživanja pomoću kojih je moguće dobiti značajne rezultate. Istraživanja u okviru predložene teme jednim dijelom su i nastavak rada kandidata u okviru naučno-istraživačkog rada iz oblasti bolesti zuba.

Članovi Komisije smatraju da postoje realni uslovi da kandidat u daljem istraživanju može uspješno da realizuje postavljene zahtjeve i da dobije značajne originalne rezultate.

Prijedlog teme doktorske disertacije mr sci. dr stom. Aleksandre Đeri pod nazivom „EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU ZUBA PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1“ zadovoljava sve kriterijume za prijavu teme doktorske disertacije.

Kandidat Aleksandra Đeri, doktor stomatologije i magistar stomatoloških nauka je, nakon opsežnog i detaljnog pregleda naučne literature, pokazala sposobnost da jasno definiše naučni problem i ciljeve istraživanja, te da vlada dizajnom istraživanja i izborom metodologije naučno-istraživačkog rada.

Na osnovu detaljne analize Prijave doktorske disertacije, članovi Komisije upućuju pozitivnu ocjenu Nastavno-naučnom vijeću Medicinskog fakulteta Univerziteta u Banjaluci i Senatu Univerziteta u Banjaluci i sa zadovoljstvom predlažu da se pozitivna ocjena prihvati i odobri tema pod naslovom „EFEKTI MINERAL TRIOKSID AGREGATA I KALCIJUM HIDROKSIDA NA PULPU ZUBA PACOVA SA EKSPERIMENTALNO IZAZVANIM DIABETES MELLITUSOM TIPA 1“ te pokrene dalji postupak izrade doktorske disertacije mr sci. dr stom. Aleksandre Đeri.

POTPIS ČLANOVA KOMISIJE

Prof.dr Jovan Vojinović

Prof.dr Slavoljub Živković

Doc. dr Ivana Stojšin

Banja Luka, Beograd, Novi Sad, novembar 2012. godine