

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ОБРАЗАЦ 6.
МЕДИЦИНСКИ ФАКУЛТЕТ НОВИ САД

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ
<p>1. Датум и орган који је именовao комисију</p> <p>08.06.2016. Наставно-научно веће Медицинског факултета Нови Сад, Универзитет у Новом Саду</p> <p>2. Састав комисије са знаком имена и презимена сваког члана, звања, назива уже научне области за коју је изабран у звање, датума избора у звање и назив факултета, установе у којој је члан комисије запослен:</p> <p>1. Проф. др Дубравка Марковић, редовни професор Медицинског факултета у Новом Саду, избор у звање 15.10.2010., ужа научна област Стоматологија (Стоматолошка протетика), Медицински факултет, Катедра за стоматологију, Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.</p> <p>2. Проф. др Игор Будак, ванредни професор Факултета техничких наука у Новом Саду, избор у звање 1. 01. 2015., ужа научна област Метрологија, квалитет, прибори и еколошко инжењерски аспекти, Факултет техничких наука у Новом Саду, Универзитет у Новом Саду.</p> <p>3. Др Весна Којић, истраживач-сарадник Природно-математичког факултета у Новом Саду, избор у звање 15.03.2013., ужа научна област Биохемија, Природно-математички факултет Нови Сад, Универзитет у Новом Саду.</p>
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ
<p>1. Име, име једног родитеља, презиме:</p> <p>Јелена, Антоније, Вулетић Ракић</p> <p>2. Датум рођења, општина, држава:</p> <p>12.08.1986., Сомбор, Република Србија</p> <p>3. Назив факултета, назив студијског програма дипломских академских студија мастер и стечени стручни назив</p> <p>Медицински факултет Нови Сад, Универзитет Нови Сад, смер стоматологија, доктор стоматологије.</p>

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија

2011. год. Докторске академске студије клиничке медицине.

5. Назив факултета, назив магистарске тезе, научна област и датум одбране:

6. Научна област из које је стечено академско звање магистра наука:

III НАСЛОВ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

„Испитивање биокомпатибилности објеката од полимера произведених адитивном технологијом за примену у области стоматологије“

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страна, поглавља, слика, шема, графикана и сл.

Докторска дисертација кандидата Јелене Вулетић Ракић је написана систематично, јасним и разумљивим стилем на 96 страница и садржи све неопходне делове научног рада који су организовани у седам поглавља: увод, циљеви и хипотезе истраживања, материјал и методе, резултати, дискусија, закључак и литература. У тексту докторске дисертације има: 14 слика, 18 табела, 1 графикон и 1 шема. На крају рада изнет је литературни преглед који броји 121 научну референцу. Добијени резултати су практично примењиви и научно актуелни и пружају значајан допринос у разумевању биокомпатибилности објеката од полимера произведених адитивном технологијом. Испитивани материјал је показао добру биокомпатибилност и велики потенцијал за употребу у стоматологији.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов рада је јасно формулисан, прецизан, индикативан, разумљив и у духу је српског језика. У потпуности указује на садржај рада.

Увод је написан систематично и свеобухватно и указује на комплексност проучавања биокомпатибилности материјала. Ради свеобухватног сагледавања предмета истраживања, увод започиње дефиницијом стоматолошких материјала и описом адитивних технологија које се користе у стоматологији. Следи део који се односи на проблематику биокомпатибилности, опис могућих нежељених реакција на материјале, као и на методе испитивања биокомпатибилности. Наведени делови увода пружају увид у развој нових технологија у стоматологији и последичној потреби за развојем и тестирањем нових материјала који се могу користити у производњи објеката овим технологијама.

Уводни део рада пружа приказ савремених сазнања уско повезаних са проблематиком која је од значаја за спроведено испитивање.

Циљ рада био је да се евалуира биокомпатибилност узорака од полимера на бази епокси смоле произведених адитивном технологијом. Испитивање се вршило у три фазе. Прво

су урађени тестови цитотоксичности- МТТ и агар дифузиони тест, затим је биокомпатибилност испитана тестом иритације оралне мукозе на хрчковима и на крају је испитана реакција ткива након субкутане имплантације узорака на пацовима. Сви тестови су предложени стандардом ISO.

Проблем истраживања је јасно постављен, а циљеви и хипотезе су реално и јасно формулисани и почивају на литературним основама.

Материјал и метод рада одговарају принципима методологије научноистраживачког рада у медицини. Поставка методологије је таква да се истраживање може поновити. Прецизно су дефинисани начин избора, величина и конструкција узорка, као и критеријуми за процену ткивног одговора. Истраживање је спроведено кроз четири теста: МТТ тест цитотоксичности материјала, агар дифузиони тест цитотоксичности, тест иритације оралне мукозе, тест субкутане имплантације.

Испитивање цитотоксичности испитиваног материјала Accura® ClearVue™ извршено је на ћелијској линији мишијих фибробласта (L929) и хуманих фибробласта (MRC-5). Ћелијске линије расту залепљене за подлогу суда у хранљивом медијуму *Dulbecco's modified Eagle's medium* (DMEM, Gibco BRL, UK) обогаћеном додатком 4,5g/l глукозе и 10% феталног говеђег серума (FCS- fetal calf serum, NIVNS). Медијум садржати и антибиотике: пеницилин 100 IU/ml и стрептомицин 100µg/ml. Ћелијске културе су одржаване под стандардним условима, у атмосфери засићеној влагом са 5% CO₂, на температури од 37°C. Инхибиција раста ћелија оцењена је МТТ и агар дифузионим тестом. У МТТ тесту су коришћени узорци материјала димензија 10/1mm, направљени фабрички. Елуат је добијен правити стављањем по 3 узорка у једну цевчицу у којој се налази DMEM, са временом инкубације од 1, 3, 5 и 7 и 21 дан. Контролну групу су чиниле ћелије узгајане без присутног материјала, односно, чист раствор DMEM са једнаким временом инкубације. Истраживање је рађено у трипликату, тако да укупно коришћено по 36 узорака од експерименталног материјала. Медијум у коме су инкубиране ћелије је извучен по завршетку инкубације, ћелије су испране са 100µl PBS-а (фосфатна пуферисана со). Вијабилне ћелије су посејане у микротитар плоче са по 96 отвора, са додатном инкубацијом од 24 сата. Раствор МТТ, припремљен непосредно пре додавања, је након тога додат у све отворе на плочи у запремини од 10 µl. Инкубација ћелија је трајала 48 сати на температури од 37 °C. По истеку времена, у сваки отвор је додато 100 µl 0.04mol/l HCl у изопропанолу, како би се растворили кристали формазана, након чега следи читавање интензитета редукције МТТ-а (на оптичкој густини од 540 nm).

Оцена биокомпатибилности материјала Accura® ClearVue™ вршена је на основу урађеног теста иритације оралне мукозе на моделу образне кесице хрчка, што је дефинисано стандардом ISO 10993-10:2010. Сиријски златни хрчци, исте старости, на којима је вршен овај оглед су током експеримента бити смештени у виваријуму (Пастеров завод, Нови Сад) у засебним пластичним кавезима, са неограниченим приступом стандардној лабораторијској храни и неограниченим приступом води. Тежина хрчкова је измерена на почетку, затим сваког другог дана, као и на крају истраживања. Експеримент је спроведен на две експерименталне групе. Истраживање је обухватило по пет животиња у свакој групи. Групе су се састојале од хрчака који су имали експериментални узорак уметнут у десну букалну кесицу и оних који су имали тефлон као контролни узорак уметнут у десну букалну кесицу. Према упутствима ISO, узорци су били дискоидног облика пречника 5mm и дебљине 2mm. Дискови од тефлона су били истих димензија као и дискови од експерименталног материјала. Узорци су стављани у десну букалну кесицу уз помоћ

стоматолошке пинцете, док је лева образна кесица служила као негативна контрола. Пластичне огрлице (22 mm у пречнику и 2 mm ширине рама) су стављане око врата хрчцима са циљем да спрече да хрчак избаци узорак. Експозиција слузокоже материјалу трајала је 12 часова сваког дана, након чега су узорци били уклоњени из уста. Образне кесице су након сваког вађења узорака биле испране физиолошким раствором, макроскопски прегледане и оцењиване према одговарајућој скали предложеној ISO 10993-10:2010 стандардом. Експеримент је трајао 21 дан. 24 h након последњег излагања материјалу, сви хрчкови су били жртвовани предозирањем анестетиком. Након тога, урађена је обрада ткива и хистолошка анализа под микроскопом.

У испитивању биокомпатибилности полимера Accuga® ClearVue™ субкутаном имплантацијом коришћени су здрави, бели лабораторијски пацови, оба пола, соја Wistar, телесне масе 150-300 грама, одабрани методом случајног избора из окота на Војно-техничком институту у Београду. За време експеримента, животиње су биле смештене у виваријуму Завода за фармакологију на Медицинском факултету у Новом Саду (24С°, 12h/12h дневно-ноћни ритам, и уз уобичајену исхрану гранулираном лабораторијском храном и уз сталан приступ води). Након интраперитонеалне администрације кетамина, и трихотомије дорзума, тупом дисекцијом ће на леђима сваке животиње бити формирана два субкутана џепа, дубине 10mm. У сваки џеп била су имплантирана 2 стерилна дискоидна узорка, димензија 10/1mm, један направљен од експерименталног, а други од контролног материјала (тефлона). Након имплантације, ране су затворене сутурама. Укупно је било коришћено 30 експерименталних животиња и 60 узорака, рачунајући и контролни материјал- тефлон, како је препоручено ISO стандардом. Оглед је трајао три месеца, са жртвовањем животиња и евалуацијом резултата на 15, 30 и 90 дана. Имплантирани материјал је ексцидиран заједно са околним ткивом и потопљен у 10% формалин ради припреме за даљу хистолошку обраду. Део истраживања који је спроведен на животињама има одобрење од стране Етичког комитета Медицинског факултета.

Изабране методе су адекватне и савремене и омогућавају добијање објективних, валидних и квалитетних резултата. Прецизно су описани експериментални протоколи којима је оцењивана реакција ћелијских култура, оралне слузокоже и субкутаног ткива на испитивани материјал.

При статистичкој обради података коришћене су стандардне статистичке анализе података. Сви подаци су обрађени статистичким програмом SPSS for Windows. Приликом статистичке обраде коришћене су методе дескриптивне и инференцијалне статистике. Поређење нумеричких података из различитих група вршено је параметријским и непараметријским методама. За утврђивање статистичких значајности употребљени су Студентов т-тест и Анализа варијансе (ANOVA). Категоријални подаци анализирани су помоћу Фишеровог теста. Повезаност нумеричких података анализирана је Пирсоновим коефицијентом корелације.

Примењене методе статистичке обраде података у потпуности су адекватне и примерене за обраду података добијених у истраживању.

Резултати произилазе из примењене методологије, прегледно су обрађени, приказани су и интерпретирани у духу савремене статистичке анализе. Резултати су приказани јасно и систематично, логичким редоследом уз концизне описе и тумачења у тексту. Сви резултати су уверљиво и прегледно приказани табеларно и произилазе из опсежне анализе бројних параметара и свеобухватно осликавају истраживану проблематику.

У дискусији аутор на медицински стручан начин објашњава добијене резултате и

изводи поређења са резултатима других аутора. Стил писања дискусије је у складу са српским језиком, јасан, прецизан и разумљив. Избегавана је непотребна употреба страних речи и израза. Тумачење добијених резултата приказано је систематично, јасно и стручно уз адекватну анализу. Цитирани литературни подаци су критички одабрани, актуелни и доприносе у великој мери објашњењу проблематике којом се докторат бави. Коментари сопствених резултата су адекватни.

Дискусија добијених резултата је исцрпна, научно утемељена, указује на завидно познавање проучаване проблематике, уз критички осврт у односу на актуелну литературу.

Закључци су реални, приказани прегледно и изведени из добијених резултата и дискусије. Хипотеза да полимер на бази епокси смоле Assura® ClearVue™ не изазива иритацију оралне слузнице хрчка је потврђена као и хипотеза да полимер на бази епокси смоле Assura® ClearVue™ изазива благу реакцију ткива при субкутаној имплантацији у леђа пацова. Агар дифузионим тестом је утврђено да полимер на бази епокси смоле Assura® ClearVue не делује цитотоксично на L929 фибробласте миша и MRC-5 хумане фибробласте, док је МТТ тестом утврђена блага цитотоксичност материјала.

Закључци су логично изведени из резултата добијених истраживањем, произилазе из добро постављених циљева и примењене адекватне методологије, реални су и прегледно изнесени.

Литература је приказана кроз 121 библиографску јединицу, које су релевантне за испитивану тематику. Литературни подаци су наведени у складу са Ванкуверским правилима. Литературни подаци обухватају све сегменте истраживања, од појма стоматолошки материјал, адитивне технологије, биокомпатибилности до нежељених реакција на стоматолошке материјале. Обухватају и стратегије за оцену биокомпатибилности, примењиване методологије и налазе других аутора о биокомпатибилности материјала са сличним хемијским саставом и сличном клиничком употребом. Литературни подаци су актуелни и адекватно одабрани за поређење са резултатима истраживања.

Комисија је позитивно оценила сва поглавља докторске дисертације.

VI СПИСАК НАУЧНИХ И СТРУЧНИХ РАДОВА КОЈИ СУ ОБЈАВЉЕНИ ИЛИ ПРИХВАЋЕНИ ЗА ОБЈАВЉИВАЊЕ НА ОСНОВУ РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА У ОКВИРУ РАДА НА ДОКТОРСКОЈ ДИСЕРТАЦИЈИ

Таксативно навести називе радова, где и када су објављени. Прво навести најмање један рад објављен или прихваћен за објављивање у часопису са ISI листе односно са листе министарства надлежног за науку када су у питању друштвено-хуманистичке науке или радове који могу заменити овај услов до 01. јануара 2012. године. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду о томе.

1. Baloš S, Milutinović M, Potran M, Vuletić J, Puškar T, Pepelnjak T. The Mechanical Properties of Moulded and Thermoformed Denture Resins. *Strojniški vestnik - Journal of*

Mechanical Engineering 2015; 61(2), 138-145. (M23)

2. Vuletić J., Potran M., D Kalem, Zorica Panić, Tatjana Puškar. Prevalence and Risk Factors for Musculoskeletal Disorders in Dentists. Serbian Dental Journal 2013; 60(1), 24-31. (M52)
3. Cankovic M, Bokor Bratic M, Tovilovic T, Vuletic J. Oral mucosa lesions and risk habits: a cross-sectional study in North Serbia student population. J Oral Health Oral Epidemiol 2015; 4(1): 38-45. (M24)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА

Закључци засновани на резултатима истраживања јасно и разложно су саопштени у 6 тачака:

1. Агар дифузионим тестом утврђено је да материјал Accura® ClearVue™ не показује цитотоксичан ефекат.
2. Резултати МТТ теста на културама ћелија L929 и MRC-5 су показали да Accura® ClearVue™ има благо цитотоксичан ефекат, који не ограничава употребу материјала у стоматологији. Цитотоксичност материјала Accura® ClearVue™ се повећава са дужином екстракције узорака.
3. Материјал Accura® ClearVue™ не узрокује механичку иритацију на анималном моделу сиријског хрчка у тесту иритације оралне мукозе.
4. Материјал Accura® ClearVue™ на анималном моделу пацова изазива благу хроничну реакцију, која се трајањем експозиције смањује.
5. Крајњи резултат хроничне реакције након имплантације материјала је ограничавање страног материјала, при чему су описане реакције нижег интензитета у односу на контролни стандардни материјал – тефлон.
6. Испитивањем биокомпатибилности материјала Accura® ClearVue™ утврђено је да не постоје се може употребљавати у стоматологији за израду хируршких вођица адитивном технологијом.

Наведени закључци су јасни, реални и пружају недвосмислене одговоре на постављене циљеве истраживања.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА

Експлицитно навести позитивну или негативну оцену начина приказа и тумачења резултата истраживања.

Резултати истраживања су приказани прегледно и систематично уз коришћење табела, и одговарајуће су тумачени у тексту. Графикон и табеле су добро креирани, прегледни и информативни. Добијени резултати су јасно и критички тумачени, на прикладан начин анализирани и логички повезани и упоређени са одговарајућим резултатима, наведеним у савременој литератури.

Позитивно оцењујемо начин приказа и тумачење резултата истраживања.

IX КОНАЧНА ОЦЕНА ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Експлицитно навести да ли дисертација јесте или није написана у складу са наведеним образложењем, као и да ли она садржи или не садржи све битне елементе. Дати јасне, прецизне и концизне одговоре на 3. и 4. питање:

1. Да ли је дисертација написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме

Докторска дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе

Докторска дисертација садржи све битне елементе научно-истраживачког рада на основу којих би се истраживање могло поновити.

4. По чему је дисертација оригиналан допринос науци

Докторска дисертација др Јелене Вулетић Ракић по својој свеобухватности, добијеним резултатима и изнетим закључцима представља оригиналан допринос медицинској научној мисли. Актуелност теме потврђена је и у студијама других истраживача које су спроведене у свету у последњих неколико година. Ова студија даје преко потребне информације о биокомпатибилности објеката од полимера на бази епокси смоле Accura® ClearVue™ који су произведени адитивном технологијом. Подаци о биокомпатибилности овог материјала пружају велики допринос како стручној, тако и научној јавности.

Резултати др Јелене Вулетић Ракић имају практични и клинички значај, јер пружају увид у особине материјала који до сада није употребљаван у стоматологији и нема научних података о његовој биокомпатибилности.

5. Недостаци дисертације и њихов утицај на резултат истраживања

Комисија није уочила недостатке докторске дисертације.

X ПРЕДЛОГ:

На основу укупне оцене дисертације, комисија предлаже:

На основу позитивног вредновања појединих делова тезе, као и на основу укупне позитивне оцене докторске дисертације, Комисија предлаже Наставно-научном већу Медицинског факултета у Новом Саду и Сенату Универзитета у Новом Саду, да се докторска дисертација кандидата др Јелене Вулетић Ракић, под називом:

„Испитивање биокомпатибилности објеката од полимера произведених адитивном технологијом за примену у области стоматологије“

прихвати, а кандидату да се одобри јавна одбрана.

датум: 16.06.2016.

ПОТПИСИ ЧЛАНОВА КОМИСИЈЕ:

Проф. др Дубравка Марковић, редовни професор,
председник комисије

Проф. др Игор Будак, ванредни професор, члан комисије

Др Весна Којић, научни-сарадник, члан комисије