

**Универзитет у Нишу**  
**Медицински факултет**

**Наставно-научном већу**

**Предмет:** Извештај Комисије о израђеној докторској дисертацији кандидата Марије Николић

Одлуком Научно-наставног већа Медицинског факултета у Нишу од 27.4. 2016. године прихваћен је извештај ментора Доц. др Александра Митића о израђеној дисертацији Марије Николић, под одобреним насловом „Утицај различитих материјала за дефинитивно пуњење канала корена зуба на зарастање коштаних дефеката-експериментална студија”.

Именована је комисија за оцену и одбрану докторске дисертације у саставу:

Проф. др Јованка Гашић, председник, Медицински факултет, Универзитет Ниш  
Доц. др Александар Митић, ментор, Медицински факултет, Универзитет Ниш  
Проф. др Горан Раденковић, Медицински факултет, Универзитет Ниш  
Проф. др Милан Кнежевић, члан са Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу  
Проф. др Славољуб Живковић, члан са Стоматолошког факултета Универзитета у Београду

Комисија прегледом докторске дисертације доноси следећи:

**ИЗВЕШТАЈ**

Тема за израду докторске дисертације кандидата Марије Николић је одобрена одлуком Наставно-научног већа за медицинске науке број 06-КС-7/10, на седници одржаној 27.4.2016. у Нишу. Докторанд Марија Николић је обавила истраживање у лабораторијама Центра за биомедицинска истраживања и Институту за хистологију и ембриологију Медицинског факултета Универзитета у Нишу.

**I Однос израђене докторске дисертације према пријављеној и одобреној теми**

Докторска теза „Утицај различитих материјала за дефинитивно пуњење канала корена зуба на зарастање коштаних дефеката- експериментална студија” представља оригиналан и самосталан научно-истраживачки рад из области болести зуба и ендодонције. Наслов докторске дисертације у потпуности је сагласан са садржајем спроведеног истраживања. Циљеви и методологија су остали непромењени током целог истраживања.

## II Технички опис дисертације

Докторска дисертација је написана на 144 страна и састоји се из 9 поглавља: увода, прегледа литературе, хипотеза, циљева, материјала и метода, резултата, дискусије, закључак и литературе.

## III Садржајна структура докторске дисертације

У уводном делу докторске дисертације укратко се указује на: основни концепт ендодонтске терапије, анатоמו-морфолошке карактеристике апексног дела пародонцијума, важност дефинитивног пуњења као завршне фазе ендодонтског третмана и процесе зарастање након ендодонтске терапије са посебним освртом на коштано зарастање. Представљене су најчешће коришћене и најзначајније класификације материјала за дефинитивно пуњење канала корена зуба као особине које се од ових материјала очекују. Карактеристике материјала на бази: калцијум хидроксида, цинк оксида са еугенолом, пластичних смола и глас јономер цемената су представљене са аспекта могућег утицаја на зарастање.

### Циљеви истраживања

У истраживању су постављени следећи циљеви:

- Испитати утицај ендодонтских материјала (*Apexit, Endomethasone N, Јодоформ цемент, AN Plus, Roeko Seal, Fuji IX*) на зарастање коштаног ткива у четири различита временска периода (15, 30, 60 и 90 дана).
- Утврдити степен инфламаторног ћелијског одговора, фиброваскуларне пролиферације и реакције удаљене кости у ткивним узорцима код примењених ендодонтских материјала.
- Упоредити утицаје тестираних ендодонтских материјала на зарастање коштаног ткива у истим временским периодима.
- Одредити временски период потребан да се разградиви материјали ресорбују из коштаних дефеката у које су имплантирани.
- Проценити клинички значај резултата добијених у овом истраживању.

### Материјал и методе

Сходно постављеним циљевима приказан је увид у примењену методологију. У експерименту су коришћени пацови соја *Wistar* (160 животиња), мушког пола, старости 6-8 недеља, просечне телесне масе - 120 грама. Животиње су гајене у лабораторијским условима на константној температури и нормалном режиму исхране као и нормалном

дневно-ноћном ритму. Животиње су подељене у 7 група: 6 експерименталних група (144 животиње) и 1 контролна група (16 животиња). Свака експериментална група се састојала од 24 животиње којима је имплантиран један од испитиваних материјала у препарисани дефект, док је дефект остављен да спонтано зараста код контролне групе. По шест животиња из сваке експерименталне групе као и по четири животиње из контролне групе жртвоване су након 15, 30, 60 и 90 дана од имплантације. У експерименту је тестирано шест материјала за дефинитивно пуњење канала корена зуба (*Apexit, Endomethasone N, Јодоформ цемент, AH Plus, Roeko Seal, Fuji IX*).

Истраживање је одобрено од стране Етичког комитета Медицинског факултета у Нишу (решење бр. 01 3797). Све животиње су припремљене за интервенцију пре медикацијом *Diazepam*-а у дози 0,5 милилитра по животињи и анестезирањем Кетамин хидрохлоридом (*Ketamidol 10% Richter Pharma AG, Аустрија*) у дози 0,1 ml/100g телесне масе. После припреме, свим животињама је препарисан артефицијални дефект у пределу између медијалне линије и форамена ментале са леве стране мандибуле. Промер дефекта препарисаног стерилним челичним фисурним борером износио је 1,4 mm а његова дубина 1,6 mm (*FIZIODISPENZER SURGIC XT*). Тако направљен дефект остављен је да спонтано зараста код животиња контролне групе, док је животиња експерименталних група пуњен одговарајућим оптурационим материјалом.

Након предвиђеног времена, животиње су жртвоване прекомерном дозом анестетика (кетамин хидрохлорид). Коштани узорци доње вилице направљени ресекцијом мандибуле у вестибуло – оралном правцу састојали су се од дела са дефектом и околне кости . Претходно испрани у физиолошком раствору, узорци су фиксирани у 10% пуферисаном формалину, испрани дестилованом водом а затим декалцификовани хемијским путем. За декалцинацију је коришћена 10% мравља киселина а време декалцинације је трајало између 24 и 72 сата, након чега су узорци испирани у текућој води. У серији алкохола, је после тога извршена дехидрација коштаног ткива, затим калупљење у парапласт и сечење микротомом (*HISTORANGE*) стакленим ножевима дебљине 2 $\mu$ m. Препарати су бојени хематоксилин – еозин методом и микроскопски анализирани светлосним микроскопом *BX50 (Olimpys, Japan)* опремљеним дигиталном камером *Leica DFC 295*.

Испитивани су следећи хистоморфолошки параметри: степен инфламаторног ћелијског одговора, степен фиброваскуларне пролиферације и реакција удаљене кости. Добијени подаци класификовани су применом семиквантитативне скале као: 0 – одсуство, 1 - слабо, 2 - умерено и 3 - изражено.

Утврђиван је и степен ресорпције примењеног ендодонтског материјала, а добијени подаци класификовани су применом семиквантитативне скале као: 0 – одсуство, 1 – присуство.

Добијени подаци током спроведеног истраживања унесени су у посебно креирану базу података, а добијени резултати статистички су обрађени. Унос, табеларно и графичко приказивање података обављено је коришћењем *MS Office Excel* програма. Резултати статистичке анализе приказани су табеларно и графички. Статистички прорачуни су вршени програмом СПСС верзија 20. Добијени резултати су приказани табеларно и графички уз текстуални коментар.

Од основних дескриптивних статистичких параметара коришћене су стандардне статистичке методе за квалитативну и квантитативну процену добијених резултата: апсолутни и релативни бројеви (%) као и вредности рангова. Анализирање разлике суме рангова између група вршено је непараметријским *Kruskal-Wallis* тестом, док је за даљу анализу између две групе употребљаван *Mann-Whitney U* тест. Статистичка хипотеза тестирана је на нивоу сигнификантности за ризик од  $\alpha = 0,05$ , тј. разлика међу узорцима сматра се значајном ако је  $p < 0,05$ .

## **Резултати**

Резултати дисертације су приказани патохистолошким микрографијама са коментаром, табеларно и графички.

- Петнаестог дана од имплантације сви испитивани материјали изазивају мањи или већи интензитет инфламације у коштаном ткиву, који се у истом периоду налази и код контролне групе, код које је препарисани дефект без пуњења остављен да спонтано зараста.
- Најјачу инфламативну реакцију 15. дана од имплантације изазвао је Јодоформ цемент а најблажу (блажу и од реакције у контролној групи) изазвао је *Endomethasone N*.
- Једини испитивани материјал који је изазвао касну реакцију инфламације шездесетог дана је *Endomethasone N*.

- После деведесет дана није било знакова инфламације ни у једној експерименталној, као ни у контролној групи.
- Фиброваскуларна пролиферација је најинтензивнија у ранијим периодима код свих испитиваних материјала. Са временом је дошло до смањења степена фиброваскуларне пролиферације у корист новоствореног коштаног ткива у свим групама.
- Деведесетог дана од имплантације дефект није био у потпуности затворен новоствореним ламеларним коштаном ткивом већ је га је делимично испуњавало фиброзно везивно ткиво само у групама где је пуњење извршено материјалима - *Endomethasone N* и Јодоформ цемент.
- Зарастање *ad integrum* је до 90. дана уочено код пуњења материјалима *Apexit* и *AH Plus*.
- *Fuji IX* и *Roeko Seal* су до 90 дана остали нересорбовани у трепанационим шупљинама али је коштаном ткивом поред материјала у потпуности регенерисано.
- Јодоформ цемент и *Endomethasone N* се из препарисаног дефекта у кости ресорбују између 30. и 60. дана, а *AH Plus* између 60. и 90. дана.
- Сви материјали су омогућили репарацију препарисаног коштаног дефекта.
- Осим у пределу експерименталног дефекта, у свим експерименталним и контролним групама запажен је низ морфолошких промена на остеоцитима и њиховим лакунама, цементним линијама, као и постојећем ендостеалном систему канала (Фолкманови и Хаверсови) на максималној удаљености од 3mm у односу на ивицу дефекта, што доказује да коштаном ткивом на надражај реагује у ширем појасу од повреде у ранијим периодима (15. и 30. дана). Међутим, до последњег опсервационог периода (90. дана) кост се враћа на нормалну морфологију.
- Ни један од испитиваних материјала није довео до трајног и тешког нарушавања морфо-функционалних односа у коштаном ткиву, нити је показао значајан стимулативни ефекат на зарастање коштаног дефекта.

## Дискусија

Дискусија обухвата објашњење добијених резултата и њихово поређење са савременим подацима из литературе, као и повезаност добијених резултата са постављеним циљевима. Кључни елементи дискусије показују да добијени резултати у великој мери корелишу са актуелним међународним публикацијама и саопштењима из испитиване области, мада има и опречних налаза.

**Закључци** садрже одговоре на постављене циљеве истраживања:

1. Локална реакција коштаног ткива на ендодонтске материјале зависи од временског периода у коме делују као и од њихових физичких и хемијских особина.
2. После петнаест дана од имплантације сви испитивани материјали изазивају мањи или већи интензитет инфламације у коштаном ткиву, који се у истом периоду налази и код контролне групе, код које је препарисани дефект без пуњења остављен да спонтано зараста.
3. Најјачу инфламативну реакцију 15. дана од имплантације изазвао је Јодоформ цемент.
4. Најблажу инфламативну реакцију (блажу и од реакције у контролној групи) после 15 дана од имплантације изазвао је *Endomethasone N*.
5. *Endomethasone N* је једини испитивани материјал који је изазвао касну реакцију инфламације шездесетог дана.
6. После деведесет дана није било знакова инфламације ни у једној експерименталној, као ни у контролној групи.
7. Код свих испитиваних материјала са временом је дошло до смањења степена фиброваскуларне пролиферације у корист новоствореног коштаног ткива.
8. Деведесетог дана од имплантације дефект који је био пуњен материјалима *Endomethasone N* и Јодоформ цемент није био у потпуности затворен новоствореним ламеларним коштаном ткивом већ је га је делимично испуњавало фиброзно везивно ткиво.
9. Дефекти пуњени материјалима *Apexit* и *AH Plus* су до 90 дана зарасли *ad integrum*

10. *Fuji IX* и *Roeko Seal* су до 90 дана остали нересорбовани у трепанационим шупљинама али је коштано ткиво поред материјала у потпуности регенерисано.
11. Јодоформ цемент и *Endomethasone N* се из препарисаног дефекта у кости ресорбују између 30. и 60. дана, а *AH Plus* између 60. и 90. дана.
12. Сви материјали су омогућили репарацију препарисаног коштаног дефекта.
13. У свим експерименталним и контролним групама запажен је низ морфолошких промена на остеоцитима и њиховим лакунама, цементним линијама, као и постојећем ендостоалном систему канала (Фолкманови и Хаверсови) на максималној удаљености од 3mm у односу на ивицу дефекта, што доказује да коштано ткиво на надражај реагује у ширем појасу од повреде у ранијим периодима (15. и 30. дана). Међутим, до последњег опсервационог периода (90. дана) кост поприма нормалну морфологију.
14. Ни један од испитиваних материјала није довео до трајног и тешког нарушавања морфо-функционалних односа у коштаном ткиву, нити је показао значајан стимулативни ефекат на зарастање коштаног дефекта.
15. Утицај који материјали за дефинитивну оптурацију каналног система зуба имају на коштано ткиво представља врло корисну смерницу при избору за клиничку примену.

#### **IV Оцена научног доприноса докторске дисертације**

Урађена докторска дисертација представља оригинални научно-истраживачки рад кандидата са значајним доприносом у области ендодонције. Добијени резултати су тема актуелних студија. Ово опсежно истраживање, са патохистолошког аспекта, детаљно анализира утицаје различитих ендодонтских материјала за дефинитивну оптурацију канала корена зуба на процесе у коштаном ткиву у функцији времена зарастања. Резултати дисертације значајно доприносе тумачењу ефеката које ови материјали имају и, сходно њиховим физичко-хемијским особинама, могу бити врло корисна смерница при избору у клиничкој пракси.

## **ЗАКЉУЧАК:**

Докторска дисертација је успешно реализована у складу са постављеним циљевима истраживања. Добијени резултати су прегледно приказани тако да дају одговоре на постављене циљеве истраживања. Коришћена је актуелна литература из области ендодонције како у прегледу литературе, тако и у дискусији добијених резултата. Комисија у наведеном саставу позитивно оцењује и прихвата докторску дисертацију кандидата др Марије Николић под насловом: „Утицај различитих материјала за дефинитивно пуњење канала корена зуба на зарастање коштаног дефеката- експериментална студија”.

Проф. др Јованка Гашић, председник, Медицински факултет, Универзитет Ниш

Доц. др Александар Митић, ментор, Медицински факултет, Универзитет Ниш

Проф. др Горан Раденковић, члан, Медицински факултет, Универзитет Ниш

Проф. др Милан Кнежевић, члан са Медицинског факултета Универзитета у Крагујевцу

Проф. др Славољуб Живковић, члан са Стоматолошког факултета Универзитета у Београду