

ИЗВЕШТАЈ О ОЦЕНИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

I ПОДАЦИ О КОМИСИЈИ		
1. Датум и орган који је именовео комисију: 12.04.2022. Наставно-научно веће Медицинског факултета Универзитета Нови Сад		
2. Састав комисије у складу са <i>Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду</i> :		
1.	Проф. др Бојан Петровић	Ванредни професор
	презиме и име	звање
	Катедра за денталну медицину Медицинског факултета у Новом Саду	Дечја и превентивна стоматологија, 19.03.2017.
	установа у којој је запослен-а	ужа научна област и датум избора
		Председник комисије
		функција у комисији
2.	Проф. др Иван Чапо	Ванредни професор
	презиме и име	звање
	Катедра за хистологију и ембриологију Медицинског факултета у Новом Саду	Хистологија и ембиологија, 12.07.2021.
	установа у којој је запослен-а	ужа научна област и датум избора
		Члан комисије
		функција у комисији
3.	Др Славица Савић	Научни саветник
	презиме и име	звање
	Центар за сензорске технологије, Институт БиоСенс, Нови Сад.	Наука о материјалима, 08.07.2020.
	установа у којој је запослен-а	ужа научна област и датум избора
		Члан комисије
		функција у комисији
II ПОДАЦИ О КАНДИДАТУ		
1. Име, име једног родитеља, презиме: Драгица, Владо, Булајић		
2. Датум рођења, општина, држава: 02.04.1993. Савски венац, Београд, Србија		
3. Назив факултета, назив претходно завршеног нивоа студија и стечени стручни/академски назив: Медицински Факултет Универзитета у Новом Саду, Интегрисане академске		

студије стоматологије, доктор стоматологије

4. Година уписа на докторске студије и назив студијског програма докторских студија:
2017. Докторске академске студије - Клиничка истраживања.

III НАСЛОВ ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Биокомпатибилност, цитотоксичност и остеоиндуктивност различитих коштаних заменика на матичним ћелијама пулпе млечних зуба

IV ПРЕГЛЕД ДОКТОРСKE ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Навести кратак садржај са назнаком броја страница, поглавља, слика, схема, графикона и сл.

Кратак садржај:

1. Увод

Поглавље увод је написано на 23 стране, укључујући укупно 4 слике и 2 табеле.

2. Циљеви и хипотезе

Поглавље циљеви и хипотезе је представљено на једној страни текста, где су приказани циљеви постављени у односу на податке приказане у уводном поглављу, а из наведених циљева проистичу основне хипотезе истраживања.

3. Методе, узорци и место експерименталног истраживања

У овом поглављу су детаљно описани материјали, методе, начин одабира узорка и место експерименталног истраживања на укупно 15 страница дисертације и укључују 1 табелу и 1 слику.

4. Резултати

Поглавље резултати обухвата 24 стране докторске дисертације, у оквиру којих су резултати истраживања приказани у виду две табеле и укупно 15 слика.

5. Дискусија

Поглавље дискусија је написано на 22 страни, у којем је детаљно извршена анализа добијених резултата и поређење са публикованим студијама.

6. Закључци

Закључци изведени из добијених резултата дисертације су приказани на једној страници текста, са укупно 5 закључака.

7. Списак скраћеница

Списак свих скраћеница коришћених у рукопису дисертације је наведен на 3 стране и обухвата пуно име скраћеница.

8. Литература

Референце (укупно 265 навода) коришћене у изради дисертације су наведене према Ванкуверским правилима и изложене на 24 страна дисертације.

Целокупна дисертација садржи укупно 7 поглавља; 110 страница; 5 табела; 20 слика.

V ВРЕДНОВАЊЕ ПОЈЕДИНИХ ДЕЛОВА ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ:

Наслов докторске дисертације је јасно и прецизно формулисан, у складу са главним садржајем истраживања.

У поглављу **Увод** су приказана актуелна сазнања о коштано ткивном инжењерингу и саставним чиниоцима потребним за коштану регенерацију. Описана је физиологија и зарастање коштаног ткива, како би се боље разумели процеси који се дешавају у организму током овог догађаја. Детаљно су приказана сазнања из савремених научних радова о коштаним заменицима, могућностима синтезе нових и унапређења постојећих материјала. Размотрена су третнутна сазнања и могућности матичних ћелија у медицини, а потом и потенцијал ћелија које се могу добити из зуба и околних зубних ткива. Акцент је стављен на могућности примене матичних ћелија пулпе млечних зуба, с обзиром на потенцијал који је доказан многим савременим научним радовима.

Комисија сматра да увод пружа свеобухватан и савремен преглед проблематике којом се истраживање бави. Указано је на уочени проблем и на детаље који још нису разјашњени. Дефинисано је подручје истраживања и прецизно су објашњене потребе за истраживањем.

У односу на податке који су изнесени у уводном поглављу дисертације, постављени су јасни **Циљеви** из којих произилазе **хипотезе** истраживања. Основни циљеви дисертације обухватају следеће:

1. Изолацију и карактеризацију мезенхималних матичних ћелија зубне пулпе пореклом из хуманих млечних зуба који се налазе у својој физиолошкој смени;
2. Одређивање биокомпатибилности испитиваних биоматеријала *Bio-oss*[®] (*Geistlich, Switzerland*), дентински опиљци и *SBA-16/HA*) и евалуација ћелијске вијабилности након контакта са њима;
3. Диференцијацију и имунохистолошку потврду остебластичне трансформације мезенхималних матичних ћелија зубне пулпе гајених у остеогеном медијуму;
4. Испитивање остеиндуктивног потенцијала различитих коштаних заменика на матичним ћелијама зубне пулпе млечних зуба методом генске експресије.

Хипотезе су јасно формулисане у односу на постављене циљеве истраживања, логичне и засноване на добро аргументованим основама. Комисија сматра да су циљеви истраживања јасно и прецизно дефинисани, а хипотезе постављене адекватно у односу на циљеве истраживања, те у потпуности усклађени са формулацијама наведеним у пријави теме докторске дисертације.

У поглављу **Материјал и методе**, јасно су дефинисани место експерименталног истраживања, начин прикупљања и критеријуми избора узорка за истраживање. Да би се обезбедила поновљивост истраживања, детаљно је описан поступак изолације ћелија из зубне пулпе млечних зуба, као и лабораторијске технике коришћене у истраживању. Том приликом су детаљно описане метода проточне цитометрије, извођење теста формирања колонија, припрема и синтеза дентинских опиљака и *SBA-16/HA* материјала. Детаљно су описане и методе

коришћене у карактеризацији синтетисаног *SBA-16/HA* материјала, *XRD* и *SWAXS* анализа, скенинг електронска микроскопија и инфрацрвена спектроскопија са Фуријеовом трансформацијом. У поглављу Методе је детаљно описана припрема екстракта материјала за извођење тестова цитотоксичности- МТТ и ДЕТ теста, потом начин диференцијације матичних ћелија у остеобласте и провера методама бојања Ализарин црвеним и имунофлуоресценцијом. На крају је методом квантитативне ланчане реакције полимеразе са реверзном транскриптазом (енгл. *quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction, qRT-PCR*) испитана остеоиндуктивност материјала. За све изведене анализе су наведене све коришћене активне супстанце и њихове концентрације и инкубациони период при третману ћелија. У овом поглављу је такође описан начин примене софтверских пакета *Cell Quest* и *SDS*. На крају поглавља су наведене статистичке методе и софтвери коришћени за обраду добијених података. У овом поглављу је такође назначено место експерименталног истраживања.

Комисија сматра да су примењене методе истраживања описане јасно и детаљно чиме се у потпуности омогућава поновљивост експеримената. Изабране методе статистичке обраде података су адекватне и примерене истраживачком задатку. Комисија сматра да је избор коришћених метода испитивања адекватан што обезбеђује добијање у потпуности поузданих резултата у складу са постављеним циљевима дисертације.

Поглавље **Резултати** описује најважније резултате проистекле у оквиру сваког појединачног циља истраживања. Резултати испитивања су уверљиво, прегледно и концизно приказани табеларно и у виду слика. Сви прикази праћени су јасним пратећим текстуалним тумачењима. Резултати произлазе из примењених метода уз коришћење адекватних статистичких метода. Добијени резултати у оквиру ове дисертације дају оригиналан допринос о потенцијалу диференцијације и могућностима коришћења матичних ћелија изолованих из зубне пулпе млечних зуба. Синтезом новог материјала *SBA-16/HA* је направљен коштани заменик који је показао одлична биокомпатибилна својства. Резултати су указали да дентински опилци имају остеоиндуктивни потенцијал на матичне ћелије.

Комисија сматра да су резултати приказани на систематичан и прегледан начин, логичним редоследом и да су свеобухватни и јасно интерпретирани.

У поглављу **Дискусија**, дато је појашњење добијених резултата испитивања као и поређење са савременим, актуелним и релевантним резултатима других истраживања. Дискусија је написана јасно, кандидаткиња аргументовано и критички анализира резултате истраживања упоређујући их са релевантним наводима из литературе. Дискусија изабране методологије и добијених резултата је исцрпна, научно утемељена, те указује на изврсно познавање проучаване проблематике уз критички осврт у односу на актуелну литературу.

Комисија сматра да је дискусија добијених резултата свеобухватна, критички постављена и уверљива. Прецизно су истакнуте сличности и разлике између

результата добијених у дисертацији и актуелних података из литературе.

У поглављу **Закључак**, на основу добијених резултата и дискусије изведени су јасни и концизни, научно засновани и поуздани закључци. Комисија сматра да закључци произлазе из постављених циљева, примењених метода и резултата истраживања.

У поглављу **Литература** су наведени савремени извори информација, који су коришћени за припрему истраживања и дискусију резултата, а који су цитирани у тексту докторске дисертације по Ванкуверским правилима.

Комисија позитивно оцењује све делове 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 складу са *Правилима докторских студија Универзитета у Новом Саду* који је повезан са садржајем докторске дисертације. У случају радова прихваћених за објављивање, таксативно навести називе радова, где и када ће бити објављени и приложити потврду уредника часописа о томе.

Радови објављени у научним часописима међународног значаја:

1. **Bulajić DV**, Drljača J, Čapo I, Savić SM, Vojisavljević K, Hodžić A, Sekulić S, Bajkin BV. Biocompatibility of mesoporous SBA-16/hydroxyapatite nanocomposite and dentin demineralized particles on human dental pulp stem cells. *Microsc Res Tech*. 2021 Dec 9. (M21, IF 2.769)

Радови у часописима националног значаја:

1. **Bulajić D**, Drljača J, Rakovac A, Miljković D, Čapo I, Sekulić S, Bajkin B. Application of scaffolds in dentistry. *Medical data*. 2019;11(1):43-47. (M52)

Саопштење са међународног скупа штампано у изводу:

1. **Bulajić D**, Drljača J, Popović (Rakovac) A, Čapo I, Sekulić S, Bajkin B. Cytotoxicity of pulp-capping materials NeoMTA Plus, ProRoot MTA and Biodentine on human deciduous dental pulp stem cells. 10. Serbian Biochemical Society X Conference, Kragujevac, 24 Septembar, 2021, pp. 53-54. (M34)

2. **Bulajić D**, Drljača J, Popovic A, Čapo I, Sekulić S, Bajić D, Bajkin B. Biocompatibility of three Pulp-capping Materials on Human Deciduous Dental Pulp Stem Cells. 8th Joint International PSU-UNS Bioscience Conference – IBSC, 25 – 26 November 2021, Novi Sad, Serbia. (M34)

VII ЗАКЉУЧЦИ ОДНОСНО РЕЗУЛТАТИ ИСТРАЖИВАЊА:

На основу резултата добијених приликом изолације и карактеризације ћелија зубне пулпе, синтезе, карактеризације и испитивања цитотоксичности и остеоиндуктивности синтетисаних биоматеријала могу се извести следећи закључци:

1. Из пулпе млечних зуба деце (*SHED*) изолују се ћелије које имају висок пролиферативни потенцијал и позитивно експримирају маркере матичних ћелија на проточном цитометру, чиме испуњавају неопходне критеријуме да буду дефинисане као хумане мезенхималне стем ћелије.
2. Испитивани новосинтетисани *SBA-16/HA* материјал и контролни *Bio-oss*[®] су показали биокомпатибилни и пролиферишући ефекат на *SHED*; док су дентински опиљци показали благи цитотоксични ефекат на ћелијама на основу резултата МТТ и ДЕТ теста.
3. Изоловане ћелије из пулпе млечних зуба у физиолошкој смени диференциране су у остеобласте након периода инкубације од три недеље у остеогеном медијуму. Присуство обојених комплекса у култури ћелија након бојења ализарин црвеним указује на новодепоновани минерализовани матрикс и показатељ је диференцијације ћелија. Остеобластична диференцијација је доказана позитивним имунофлуоресцентним бојањем остеогеним маркерима; ћелије су показале високу експресију анти-*Coll1* и остеопонтинина, док је експресија *Ki-67* и анти-*SOX2* антитела била нешто слабија.
4. Од свих испитиваних материјала, само су дентински опиљци показали статистички значајна остеоиндуктивна својства, експримирајући *ALPL* и *RUNX2* гене. Материјал *Bio-oss*[®] је у све три групе показао експресију оба гена која је нижа од контролне групе, док је *SBA-16/HA* само у групи екстракта старог 1. дан имао благо повишену експресију *ALPL* гена, гена ране остеобластичне диференцијације.
5. На основу овог истраживања, *SBA-16/HA* и *Bio-oss*[®] су показали показали задовољавајућ ниво биокомпатибилности. Са малом предношћу *SBA-16/HA* је био бољи од примењиваног златног стандарда *Bio-oss*[®]. Дентински опиљци који се већ користе у клиничкој пракси су показали нижи ниво биокомпатибилности, али висок остеоиндуктивни потенцијал.

Комисија сматра да су формулисани закључци логично изведени из добијених резултата и јасно одражавају значај и научни допринос спроведеног истраживања.

VIII ОЦЕНА НАЧИНА ПРИКАЗА И ТУМАЧЕЊА РЕЗУЛТАТА ИСТРАЖИВАЊА:

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

Мишљење Комисије је да су резултати истраживања у оквиру докторске дисертације систематично, јасно и прикладно приказани и интерпретирани. Тумачење резултата се заснива на савременим и доступним научним сазнањима, те се начин приказа и тумачења резултата истраживања оцењује позитивно.

Комисија позитивно оцењује начин приказа и тумачења 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?

Дисертација је написана у складу са образложењем наведеним у пријави теме.

2. Да ли дисертација садржи све битне елементе?

Дисертација садржи све битне елементе, укључујући сва потребна поглавља и свеобухватне оригиналне резултате истраживања. Дисертација је написана концизно, разумљиво и резултат је самосталних истраживачких напора кандидаткиње.

3. По чему је дисертација оригиналан допринос науци?

Дисертација је резултат оригиналног научног рада кандидаткиње. Представља експериментално *in vitro* истраживање у којем је поред испитивања биокомпатибилности три материјала за коштану замену спороведено и испитивање њихове остеоиндуктивности на матичним ћелијама зубне пулпе млечних зуба. Актуелност теме потврђују бројне студије из области дечје стоматологије и оралне хирургије на тему потенцијала матичних ћелија зубне пулпе, и из области науке о материјалима који се баве синтезом нових и побољшањем постојећих материјала за коштану регенерацију. На основу добијених резултата, утврђено је да постоји висок степен ћелијске компатибилности *SBA-16/HA* и *Bio-oss*[®] материјала, и задовољавајући степен ћелијске компатибилности дентинских опилјака. Такође је утврђено да дентински опилјци имају статистички значајан потенцијал диференцијације матичних ћелија у остеобласте, док *SBA-16/HA* и *Bio-oss*[®] нису позитивно експримирани коштани маркери. Применом ових сазнања у пракси, ћелије пулпе млечних зуба би се могле изоловати, чувати у банкама ткива и користити за каснију регенерацију ткива. Такође ови резултати би могли допринети увођењу нових материјала у свакодневну праксу надокнаде коштаних дефеката у оралној хирургији.

4. Који су недостаци дисертације и какав је њихов утицај на резултат истраживања?

У истраживању дисертације су коришћене адекватне и вишеструке контроле како би се осигурала робусност резултата и избегло извођење неоснованих закључака. Сваки експеримент је изведен најмање два пута. Самим тиме, мишљење Комисије јесте да нема недостатака у истраживању дисертације који би могли утицати на резултате истраживања.

X ПРЕДЛОГ:
На основу наведеног, комисија предлаже:
а) да се докторска дисертација прихвати, а кандидату одобри одбрана;
б) да се докторска дисертација врати кандидату на дораду (да се допуни односно измени);
в) да се докторска дисертација одбије.

Место и датум:
Нови Сад, 13.04.2022.

1. др Бојан Петровић, ванредни професор,

_____, председник

2. др Иван Чапо, ванредни професор

_____, члан

3. др Славица Савић, научни саветник

_____, члан

НАПОМЕНА: Члан комисије који не жели да потпише извештај јер се не слаже са мишљењем већине чланова комисије, дужан је да унесе у извештај образложење односно разлоге због којих не жели да потпише извештај и да исти потпише.