

## **Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta**

### **Univerziteta u Beogradu**

Na sednici Nastavno-naučnog veća Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu, održanoj 16.12.2014. godine, imenovana je komisija u sastavu:

- Prof. dr Vladimir Ivanović, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu
- Doc. dr Jugoslav Ilić, Stomatološki fakultet Univerziteta u Beogradu
- Dr sc. Đorđe Veljović, Tehnološko-metalurški fakultet Univerziteta u Beogradu
- Dr sc. Miloš Milošević, Inovacioni centar Mašinskog fakulteta Univerziteta u Beogradu

za ocenu završene doktorske disertacije pod nazivom:

“KOMPOZITI I ADHEZIVI SA SINTETSKIM HIDROKSIAPATITNIM  
PUNIOCIMA I HIDROKSIAPATITNI INSERTI: ISPITIVANJE MEHANIČKIH  
SVOJSTAVA I KVALITETA ADHEZIVNE VEZE“

Kandidat: dr Maja Ležaja

Mentor: Doc. dr Vesna Miletić

Imenovana komisija je proučila doktorsku disertaciju i podnosi Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu sledeći

# IZVEŠTAJ

## A. Prikaz sadržaja doktorske disertacije

Doktorska disertacija dr Maje Ležaje pod nazivom “Kompoziti i adhezivi sa sintetskim hidroksiapatitnim puniocima i hidroksiapatitni inserti: ispitivanje mehaničkih svojstava i kvaliteta adhezivne veze“ napisana je na 131 strani, sadrži 12 tabela, 12 grafikona, 47 slika i 232 reference iz savremene naučne literature. Disertacija sadrži rezime na srpskom, rezime na engleskom, listu skraćenica, uvod sa pregledom literature, materijal i metod, rezultate, diskusiju, rezime rezultata, zaključak, literaturu, priloge i biografiju.

U **Uvodu** je dat osvrt na strukturu čvrstih zubnih tkiva na mikroskopskom i molekularnom nivou, karakteristike sintetskog hidroksiapatita (HAP) i njegovu biomedicinsku primenu. Sadržaj uvoda je dalje strukturiran tako da prati tri celine, celinu o kompozitima, o adhezivima i o insertima. Svaka celina sadrži pregled literature o mehaničkim svojstvima i kvalitetu adhezivne veze sa posebnim osvrtom na svojstva koja su testirana i u samoj doktorskoj disertaciji. Na kraju svake celine dat je pregled literature o primeni sintetskog HAP-a u svakoj grupi materijala.

**Ciljevi istraživanja** bili su da se ispita: 1) uticaj zamene dela staklenih punilaca različitim tipovima HAP punilaca na stepen konverzije i mehanička svojstva kompozitne smeše (tvrdoću po Vikersu, savojnu čvrstoću, savojni moduo elastičnosti, pritisnu čvrstoću i pritisni moduo elastičnosti) inicijalno i nakon artefijelnog „starenja“ u Henkovom rastvoru; 2) uticaj dodatka nano-HAP punilaca na jačinu adhezivne veze sa dentinom i tip loma restaurisanih dentinskih uzoraka; 3) uticaj HAP inserata na zapreminsku kontrakciju restaurisanih dentinskih diskova u kombinaciji sa univerzalnim kompozitom, tečnim kompozitom i glas-jonomer cementom, kao i jačinu veze inserta i pomenutih materijala. Na osnovu navedenih ciljeva definisani su konkretni zadaci istraživanja i nulte hipoteze koje će biti statistički proveravane.

Na početku poglavlja **Materijal i metod** navedeni su aparatura i materijali korišćeni u istraživanju. Potom su navedene procedure pripreme HAP čestica kao i njihove osnovne karakteristike, uključujući i mikrografije strukture čestica dobijene skenirajućom i transmisionom elektronskom mikroskopijom. U ovom delu prikazana je i pilot studija na osnovu koje je određen maseni udeo HAP punilaca koji će biti dalje

korišćen u eksperimentalnim kompozitima. Zatim su detaljno opisani postupci pripreme eksperimentalnih materijala i uzoraka za svaki test, kao i opis svakog test metoda uz odgovarajuće šeme, fotografije eksperimentalne postavke i formule na osnovu kojih su izračunate vrednosti nabrojanih mehaničkih svojstava. Ređe korišćene metode su naročito detaljno opisane, poput metode za ispitivanje dimenzionalne stabilnosti materijala primenom sistema sa dve kamere i specijalizovanog softverskog sistema Aramis (GOM). Ovim sistemom se prate deformacije i pomeranje materijala u tri dimenzije. Na kraju poglavlja Materijal i metod opisane su odgovarajuće metode statističke analize, metode za procenu validnosti parametarskih testova, eventualne transformacije podataka, nivo značajnosti, kao i statistički paket u kome je urađena statistička analiza.

**Rezultati** merenja i statističkih testova prikazani su grafikonima i tabelama u tri dela, a prema ispitivanim materijalima. Prva celina obuhvata rezultate merenja stepena konverzije, tvrdoće po Vickersu, savojne čvrstoće, savojnog modula elastičnosti, kompresivne čvrstoće, kompresivnog modula elastičnosti za eksperimentalne kompozitne materijale sa dodatim različitim tipovima HAP punilaca. Komparativno su date srednje vrednosti i standardne devijacije za navedena svojstva merena inicijalno nakon polimerizacije i nakon artefijelnog "starenja". Kvantitativni podaci su dopunjeni visokokvalitetnim SEM mikrografijama na kojima su prikazani distribucija punilaca u organskom matriksu, kao i tipovi fraktura kod sfernih odnosno trakastih punilaca. Druga celina prikazuje rezultate jačine veze sa dentinom Single Bond Universal adheziva aplikovanog po protokolu totalnog nagrivanja i po protokolu samonagrivanja, kao i TeEconom Bond adheziva nakon dodatka nano-HAP punilaca. Tabelarno su prikazani podaci o distribuciji različitih tipova frakture nakon testa smicanja. SEM mikrografije ilustruju interakciju pomenutih adheziva sa dentinom pri čemu se uočavaju adhezivni i hibridni sloj i smolasti produžeci u dentinskim tubulima. Treća celina prikazuje rezultate o kvalitetu adhezivne veze univerzalnog kompozita, tečnog kompozita i smolom modifikovanog glas jonomer cementa sa HAP insertima, odnosno srednje vrednosti i standardne devijacije jačine veze smicanja, kao i tipove frakture u pojedinim grupama. Grafički su prikazani rezultati merenja dimenzionalne stabilnosti restaurisanih dentinskih diskova sa pomenutim materijalima i insertima. Prikazane su vrednosti deformacije i pomeranja materijala dobijene metodom korelacije digitalnih slika, a koje vrednosti se odnose na centralne i periferne zone restauracija.

SEM mikrografijama su ilustrovane zone veze materijala sa insertima sa jedne strane i sa dentinom sa druge strane, na kojima se uočava kompaktna marginalna adaptacija bez zona mikropukotina.

**Diskusija** je, takođe, podeljena u tri celine prema ispitivanim materijalima. U diskusiji metodologije u svakom delu data su objašnjenja za specifičnosti eksperimentalne procedure, uključujući i izbore test metoda. Dobijeni rezultati su analizirani u kontekstu prethodnih sličnih istraživanja. Diskutovani su uzroci i načini dejstva pojedinih oblika HAP punilaca na mehanička svojstva eksperimentalnih kompozita i na to kako se HAP čestice u zavisnosti od oblika i strukture ponašaju usled dejstva sila. Analizirane su razlike u uticaju suspenzija sa nano-HAP puniocima na jačinu veze sa dentinom sa aspekta sastava adheziva i protokola aplikacije. Znatne razlike u kvalitetu adhezivne veze između restaurativnih materijala i HAP inserata objašnjene su specifičnim mehanizmima adhezije za svaki tip materijala i protokol aplikacije. Dobijeni rezultati 3D kontrakcije i pomeranja materijala u kombinaciji sa HAP insertima diskutovani su sa aspekta “C-faktora”, a dopunjeni matematičkim proračunom istog za kliničke i eksperimentalne uslove.

Kao dopuna tradicionalnoj strukturi doktorske disertacije, uvedeno je poglavlje **Rezime rezultata**. U ovom poglavlju su taksativno navedeni najvažniji rezultati koji se odnose na sve tri celine disertacije (kompozite, adhezive i inserte). Na taj način se stiče jasniji uvid u naučni doprinos predmetne doktorske disertacije.

**Zaključak** ističe značaj dobijenih rezultata za potencijalnu primenu sintetskih HAP punilaca u kompozitnim materijalima i adhezivnim sistemima, u adekvatnim oblicima i masenim udelima, radi poboljšanja svojstava materijala i kvaliteta adhezivne veze. Zaključeno je i da bi HAP inserti mogli imati funkciju dentinskog zamenika u velikim lezijama zbog dimenzionalne stabilnosti samih inserata i znatne redukcije količine materijala koji podleže polimerizacionoj kontrakciji. Preporučena je upotreba univerzalnih kompozita sa “totalno-nagrizajućim” adhezivima za restauracije koje sadrže HAP inserte.

U poglavlju **Literatura** navedene su 232 reference iz savremene naučne literature citirane u doktorskoj disertaciji, abecednim redosledom u skladu sa Harvardskim stilom citiranja literature.

## B. Kratak opis postignutih rezultata

HAP punioci su doprineli poboljšanju mehaničkih svojstva eksperimentalnih kompozita u pojedinim grupama zbog čega bi se mogli koristiti kao zamena dela staklenih punilaca. HAP sfere su pozitivno uticale na mehanička svojstva testiranih materijala, kako inicijalno, tako i nakon artefijalnog "starenja". HAP trake su najizraženije povećavale savojnu čvrstoću eksperimentalnih kompozita inicijalno, ali "starenjem" su postajale krnije pa su se njihova mehanička svojstva izjednačavala sa svojstvima kontrolnog kompozita bez HAP punilaca. Konverzija organske komponente nije bila ometena dodatkom HAP punilaca. Kompoziti sa dodatkom HAP punilaca su pokazivali bioaktivna svojstva nakon potapanja u Henkov rastvor.

Adhezivi sa dodatkom nano-HAP punilaca ostvarili su sličnu ili jaču vezu sa dentinom. Pozitivan uticaj HAP-a bio je izraženiji kod adheziva aplikovanih nakon kiselinskog nagrizanja, u odnosu na adheziv aplikovan samonagrizajućim protokolom, i to povoljniji je bio uticaj nano-HAP traka, dok su kod adheziva aplikovanog samonagrizajućim protokolom povoljniji uticaj imale nano-HAP iglice. Single Bond Universal sa nano-HAP trakama u udelu od 1 mas% ostvario je značajno jaču vezu sa dentinom u odnosu na kontrolni komercijalni adheziv Single Bond Universal aplikovan protokolom totalnog nagrizanja (za oko 45%). Jačina veze za dentin TeEconom Bond-a je dodatkom 0,5 mas% nano-HAP traka povećana za oko 62,5%, dok dalje povećanje udela HAP-a u istom adhezivu nije imalo pozitivan uticaj. Dodatak HAP punilaca nije ometao prodor adheziva u dentinske tubule i formiranje smolastih produžetaka.

HAP inserti kao sinterovani HAP blokovi kontrolisane poroznosti, smanjili su zapreminsku kontrakciju i pomeranje materijala u centralnim delovima kaviteta u dentinskom disku restaurisanom insertom u kombinaciji sa restaurativnim materijalima. Kiselinsko nagrizanje HAP inserata povećalo je broj i veličinu pora na njegovoj površini što je doprinelo uspostavljanju mikromehaničke veze sa restaurativnim materijalima. Kao najpoželjniji materijal za cementiranje inserata pokazali su se univerzalni kompoziti sa "totalno-nagrizajućim" adhezivom, dok je veza sa tečnim kompozitom i smolom modifikovanim glas-jonomer cementom bila značajno slabija. Marginalna adaptacija inserata i restaurativnih materijala pokazala je odsustvo mikropukotine na spoju materijala i inserta, kao i na spoju materijala sa dentinom.

Upotreba HAP inserata kao dentinskih zamenika bi mogla olakšati i skratiti kliničku proceduru restauracije velikih kaviteta.

### **C. Uporedna analiza doktorske disertacije sa rezultatima iz literature**

U malom broju studija ispitivan je uticaj HAP punilaca na mehanička svojstva eksperimentalnih kompozita (Zhang i Darvell, 2012, Santos i saradnici, 2001). Oblici HAP-a korišćeni u ovoj doktorskoj disertaciji originalno su sintetisani i nisu ranije testirani u stomatološkim materijalima. Studija Chena i saradnika iz 2011. godine bavila se ispitivanjem biaksijalne otpornosti na savijanje eksperimentalnih kompozita i pokazan je sličan pozitivan uticaj HAP-traka na ovo svojstvo kakav je prikazan i u ovoj doktorskoj disertaciji na savojnu čvrstoću. Svi ostali autori (Labella i saradnici, 1994, Zhang i Darvell, 2012, Domínguez i saradnici, 2001, Arcis i saradnici, 2002) su mehanička svojstva eksperimentalnih kompozita poredili sa svojstvima nepunjenih smola, pri čemu su koristili samo HAP punioce. Zbog toga nisu moguća direktna poređenja sa rezultatima iz ove doktorske disertacije.

U literaturi postoji malo podataka o uticaju HAP punilaca na svojstva dentalnih adheziva i kvalitet adhezivne veze. Tek nekoliko studija u poslednjih 5 godina se bavilo ovom temom (Zhang i Wang, 2012, Sadat-Shojai i saradnici, 2010, Leitune i saradnici, 2013, Wagner i saradnici, 2013), pri čemu su samo poslednja tri autora ispitala jačinu veze sa dentinom adheziva sa dodatkom HAP punilaca. U svim studijama je zabeležen porast jačine veze sa dentinom adheziva sa dodatkom HAP punilaca što se podudara sa nalazom iz ove doktorske disertacije. Sadat-Shojai i saradnici su mikrosmicanjem pokazali poboljšanje veze sa dentinom nakon dodatka 0,2 mas% HAP-a (testirani su udeli 0,2-5 mas%). Wagner i saradnici su mikrostezanjem pokazali poboljšanje veze sa dentinom nakon dodatka 1 ili 5 mas% (testirani su udeli 0,2-10 mas%), dok su Leitune i saradnici mikrosmicanjem pokazali povećanje jačine veze nakon dodatka 2 mas% HAP-a (testirani su udeli 0,5-20 mas%). Dakle i u prethodnim studijama je uočen povoljniji uticaj manjeg udela dodatog HAP-a, kao i slabljenje jačine veze sa dentinom daljim povećanjem udela. Ova doktorska disertacija razlikuje se od pomenutih studija po tipu dodatog HAP-a, po tome što je HAP dodavan u obliku suspenzije i po tome što je jačina veze testirana makrosmicanjem.

HAP inserti nisu ranije testirani. Rezultati iz predmetne doktorske disertacije upoređivani su sa podacima iz literature za keramičke inserte (Kiremitci i saradnici, 1998; Hahn i saradnici 1998; Dietschi i Herzfeld 1998; Gorucu, 2003; Sjögren i saradnici 2000). Marginalna adaptacija ranije korišćenih tipova inserata ispitivana je testom mikrocurenja (Basavanna i saradnici, 2012, Salim i saradnici, 2005), SEM analizom procenta kontinuiranih marginalnih rubova posmatranjem replika (Heintze i saradnici, 2005, Petrovic i saradnici, 2010, Strobel i saradnici, 2005) ili metodom živinog kupatila (Tani et al., 1993). Analiza SEM mikrografija u ovoj doktorskoj disertaciji pokazala je dobru marginalnu adaptaciju restauracija sa HAP insertima i odsustvo mikropukotina na spoju inserta i materijala, kao i materijala i dentina. Kweon i saradnici (2013) su ispitivali pomeranje kompozitnog materijala i dobili slične vrednosti kao za grupe bez inserata iz ove disertacije, dok je u grupama sa insertom pomeranje bilo znatno manje u odnosu na rezultate iz pomenute studije.

#### **D. Objavljeni radovi iz oblasti doktorske disertacije**

1. Maja Lezaja, Djordje Veljovic, Dragica Manojlovic, Milos Milosevic, Nenad Mitrovic, Djordje Janackovic and Vesna Miletic. Bond strength of restorative materials to hydroxyapatite inserts and dimensional changes of insert-containing restorations during polymerization. *Dental Materials* (2014), Article in press. DOI: 10.1016/j.dental.2014.11.017. (M21)
2. Maja Lezaja, Djordje N. Veljovic, Bojan M. Jokic, Ivana Cvijovic-Alagic, Milorad M. Zrilic and Vesna Miletic. Effect of hydroxyapatite spheres, whiskers, and nanoparticles on mechanical properties of a model BisGMA/TEGDMA composite initially and after storage. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, Volume 101, Issue 8, November 2013, Pages: 1469–1476. (M22)

#### **E. Zaključak (obrazloženje naučnog doprinosa)**

Doktorska disertacija dr Maje Ležaje “Kompoziti i adhezivi sa sintetskim hidroksiapatitnim puniocima i hidroksiapatitni inserti: ispitivanje mehaničkih svojstava i kvaliteta adhezivne veze“ predstavlja značajan i originalni naučni doprinos primeni sintetskih hidroksiapatita u restaurativnim materijalima. Razvijena je metodologija primene hidroksiapatitnih punilaca u kompozitnim materijalima i adhezivnim sistemima, a po prvi put su dobijeni inserti na bazi sintetskog hidroksiapatita. Hidroksiapatitni punioci u kompozitnim materijalima su doprineli poboljšanju mehaničkih svojstava materijala, kako inicijalno tako i nakon artefijelnog „starenja“. Nano-punioci na bazi hidroksiapatita mogu se koristiti i u dentalnim adhezivima radi

unapređenja kvaliteta adhezivne veze. Zbog svoje dimenzionalne stabilnosti, hidroksiapatitni inserti značajno smanjuju zapreminsku kontrakciju ispuna, a ostvaruju kvalitetnu vezu sa univerzalnim kompozitima u pogledu jačine veze i marginalne adaptacije. Ova doktorska disertacija otvara novo polje istraživanja hidroksiapatitnih inserata za nadoknadu dentina u velikim kavitetima.


Doktorska disertacija dr Maje Ležaje zadovoljava sve principe naučnog eksperimentalnog rada, sadrži jasno definisane ciljeve istraživanja, dizajn istraživanja odgovara postavljenim ciljevima, a realizovan je savremenim eksperimentalnim metodama, rezultati su jasno prikazani, kompetentno diskutovani i sažeti u zaključak o klinički relevantnoj upotrebi sintetskih hidroksiapatita u vidu punilaca i inserata.

Komisija jednoglasno predlaže Nastavno-naučnom veću Stomatološkog fakulteta Univerziteta u Beogradu da donese odluku kojom se usvaja pozitivan izveštaj o doktorskoj disertaciji dr Maje Ležaje.

U Beogradu, 30.12.2014.

Članovi komisije:

  
.....  
/Prof. dr Vladimir Ivanović/

  
.....  
/Doc. dr Jugoslav Ilić/

  
.....  
/Dr sc. Đorđe Veljović/

  
.....  
/Dr sc. Miloš Milošević/