



Универзитет у Крагујевцу
Факултет медицинских наука
Наставно-научном већу

**ОДЛУКА ВЕЋА ЗА МЕДИЦИНСКЕ НАУКЕ УНИВЕРЗИТЕТА У КРАГУЈЕВЦУ О
ФОРМИРАЊУ КОМИСИЈЕ ЗА ОЦЕНУ ЗАВРШЕНЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-20/18 од 19.01.2021. формирана је комисија за оцену завршене докторске дисертације Тасо др Ервина под називом:

„Утицај материјала за денталне испуне апроксималних препарација на параметре оксидативног стреса у гингивалној сулкусној течности “ у саставу

1. **Проф др Марија Миловановић,**
Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Микробиологија и имунологија, председник
2. **Проф др Иванка Зелен,**
Ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Биохемија, члан
3. **Проф др Данило Војводић,**
Редовни професор Медицинског факултета Војномедицинске академије Универзитета одбране у Београду за ужу научну област Имунологија, члан

Комисија је прегледала и проучила докторску дисертацију Тасо др Ервина и подноси Наставно-научном већу следећи

ИЗВЕШТАЈ

2.1. Значај и допринос докторске дисертације са становишта актуелног стања у одређеној научној области

Докторска дисертација под називом „Утицај материјала за денталне испуне апроксималних препарација на параметре оксидативног стреса у гингивалној сулкусној течности“ коју је израдио Тасо др Ервин под менторством проф др Татјане

Кањевац, ванредног професора Факултета Медицинских наука у Крагујевцу, представља оригинално научно дело. Спроведена истраживања, која су комбинација клиничке и експерименталне студије су се односила на проучавање биокомпатибилности примењених денталних материјала у терапији каријеса испитивањем статуса оксидативног стреса гингивалне цервикалне течности (ГТ). Истраживање је урађено са циљем да се прати и испита утицај степена денталног каријеса, позиције зуба, типа и количине примењеног ресторативног материјала на профил оксидативног стреса у ГТ. Испитивано је шест врста материјала, три за привремену ресторацију (цинк поликарбоксилатни цемент, цинк фосфатни цемент, глас јономер цемент) и три за дефинитивну рестаурацију (амалгам, *Tetric Evvo Searm Beautiful*). Ови материјали су примењивани у санирању денталног каријеса различитог степена.

Каријес представља једно од најчешћих обољења у свету. Сматра се да је бактеријско обољење тврдих денталних ткива настало као последица локалног имунског одговора на инвазију оралних патогена. Каријес је резултат интеракције кариогене флоре усне дупље, ферментабилних угљених хидрата као и специфичних и неспецифичних фактора одбране. Гингивална цервикална течност поуздано рефлектује локални имунски одговор око појединачних зуба с обзиром да несанирани каријес који се развија на апроксималним површинама зуба долази у контакт са гингивалним сулкусом. Без обзира на локализацију каријесна лезија доприноси акумулацији денталног плака и самим тим погодује микроорганизмима да образују своје колоније. Дуготрајни локални запаљенски процеси делују на све структуре зуба, утичући на повећање протока гингивалне течности, као и на измену њеног садржаја.

На примеру пародонтопатије показано је да је локална антиоксидансна одбрана против фактора околине изузетно важна. Оксидативни стрес представља неспособност антиоксидативног одбрамбеног система да се у живим организмима изборе са неконтролисаним, прекомерном продукцијом слободних радикала, која резултује у оксидативној повреди свих класа биомолекула, укључујући протеине, липиде, фосфолипиде и деоксирибонуклеинску киселину. Различите класе слободних радикала (реактивни кисеоник, азот, сумпор или угљеникови деривати) могу иницирати одговарајући тип стреса, оксидативни, нитрозативни, тиолски или угљенични (ROS, RNS, RSC или RCC). Последице могу бити различитих нивоа, од измењене ћелијске сигнализације и промене енергетског статуса ћелије, до смрти ћелије, најчешће путем апоптозе.

Резултати истраживања публикованих у последњих двадесет година показала су удруженост оксидативног стреса и различитих патолошких стања у устима, од упалне пародонтопатије до малигних процеса у усној шупљини. Новије студије у којима се испитује редокс статус у микроокружењу уста углавном су се односиле на активност пероксидазе у саливи. У скорије време пажња истраживача је фокусирана на истраживања параметара гингивалне цервикуларне течности за прецизнију анализу промена у устима и праћење успеха терапије. Утицај системских фактора из околине (хигијенске навике, утицај хране, уноса алкохола) на параметре у саливи много је већи него на параметре ГТ. Изузетак је пушење, за које је показано да повећава волумен и проток ГТ. Вођени

чињеницом да је ГТ специфична течност која рефлектује стање тврдых и меких ткива у непосредној близини појединачног зуба (трансудат крвне плазме локалних крвних судова у гингивалном сулкусу), значајно мање експонирана системским утицајима одабрана је ГТ као погодан узорак за овакву врсту истраживања.

Прекомерна и неконтролисана продукција слободних кисеоничних радикала (укључујући *superoxide anion* - $O_2^{\bullet-}$, *hydrogen peroxide* - H_2O_2 , *hydroxyl radical* - HO^{\bullet} , *hypochlorous acid* - $HOCl$) одвија се и у денталним лезијама као што је каријес, током фагоцитозе. Реактивни елементи оштећују субћелијске и/или ћелијске мембране фаголизозома неутрофилних гранулоцита током процеса респираторног праска. Временом, оксидациони производи поли несатурисаних масних киселина (делови ћелијских мембрана) се конвертују у карбониле, као што је МалонДиАлдехид – MDA, који се сматра поузданим маркером липидне пероксидације. У неконтролисаним условима долази до преласка мијелопероксидазе и NADH-оксидазе из фаголизозома у цитоплазму фагоцитних ћелија. Најчешће, то резултује ослобађањем оба наведена ензима из фагоцитних ћелија у интерстицијални простор инфицираног/инфламираног ткива, са последичним оштећењем. Секвестрација $O_2^{\bullet-}$ од укупне супероксид дисмутазе (SOD) и H_2O_2 од каталазе може умањити бактерицидну активност посредовану мијелопероксидазом унутар и/ил изван фагоцита, што резултује у смањеној липидној пероксидацији узрокованој овим ензимом. Улога SOD у патолошким стањима зуба до сада није утврђена.

Резултати *in vitro* испитивања показала су да материјали денталних испуна коришћени за терапију каријеса покрећу значајан локални биолошки одговор, манифестован продукцијом бројних медијатора и оксидоредукционих параметара. Отуда и идеја да се у страживању повеже испитивање биокомпатибилности денталних материјала одређивањем статуса тзв оксидативног стреса у узорцима ГТ.

2.2. Оцена да је урађена докторска дисертација резултат оргиналног научног рада кандидата у одговарајућој научној области

Увидом у доступну литературу прикупљену детаљним и систематским претраживањем великих база података (*PubMed, Cochrane data base, Google Scholar*) користећи кључне одреднице: денталне рестаурације, гингивална цервикална течност, глутатион, липидна пероксидација, супероксид дисмутаза, оксидативни стрес, каријес и међусобним укрштањем сваке од наведених одредница са одредницама Амалгам, *Tetric Evo Ceram, Beautifill*, Цинк фосфатни цемент, Поликарбоксилатни цемент, глас јономер цемент, нису нађене студије сличног дизајна и методолошког приступа. На основу наведених чињеница комисија закључује да је докторска дисертација Тасо др Ервина под називом „Утицај материјала за денталне испуне апроксималних препарација на параметре оксидативног стреса у гингивалној сулкусној течности “ проистекла из оргиналног научног истраживања.

2.3. Преглед остварених резултата рада кандидата у одређеној научној области

А) Лични подаци

Ервин Тасо рођен је 05.06.1974. године у Панчеву. Основну и средњу школу завршио у истом граду. Стоматолошки факултет завршио у Београду 2001 године. После завршеног обавезног стажа и Школе резервних официра Војске Србије почиње да ради у Војсци Србије као потпоручник, доктор стоматологије на ВМЦ Нови Београд 2003. године. Специјализацију из Стоматолошке протетике уписује 2004 на Војномедицинској академији а 2007 постаје специјалиста и почиње да ради на Одељењу стоматолошке протетике Клинике за стоматологију ВМА. Године 2011 уписује докторске студије на Универзитету у Крагујевцу и исте године прелази у Управу Клинике за стоматологију где почиње да ради хируршку протетику на имплантатима. Године 2016-те уписује специјализацију из Оралне хирургије на Стоматолошком факултету у Београду и 2019-е године по стицању звања специјалисте оралне хирургије почиње да ради на Одељењу за имплантологију ВМА на месту оралног хирурга са чином потпуковника. Члан је Секције за оралну хирургију СЛД и Секције за стоматолошку протетику. Као члан тима за Континуирану едукацију Клинике за стоматологију ВМА одржао је неколико предавања специјализантима и запосленим на клиници. Аутор је и коаутор неколико публикација. До сада је објавио 7 радова у домаћим или међународним часописима као аутор или коаутор. Од тога, први рад ранга M21a је публикација која га квалификује да је испунио услове за оцену и одбрану ове дисертације.

Б) Списак објављених радова

1. Taso E, Stefanovic V, Stevanovic I, Vojvodic D, Topic A, Petkovic-Curcin A, Obradovic-Duricic K, Markovic A, Dukic M, Vujanovic D. Influence of Dental Restorations on Oxidative Stress in Gingival Crevicular Fluid. Oxid Med Cell Longev. 2018;2018:1823189. **M21**
2. Taso E, Stefanovic V, Gaudin A, Grujic J, Maldonado E, Petkovic-Curcin A, Vojvodic D, Sculean A, Rakic M. Effect of dental caries on periodontal inflammatory status: A split-mouth study. Arch Oral Biol. 2020;110:104620. **M22**
3. Stefanović V, Taso E, Petković Ćurčin A, Djukic M, Gardašević M, Rakic M, Xavier S, Jović M, Miller K, Stanojević I, Vojvodić D. Influence of dental filling material type on the concentration of interleukin 9 in the samples of gingival crevicular fluid. Vojnosanit Pregl. 2016;73(8):728-34. **M23**

2.4. Оцена о испуњености обима и квалитета у односу на пријављену тему

Докторска дисертација Тасо др Ервина се састоји из основног докторског рада који је написан на 62 странице (фонт 12, проред 1, 19045 речи), насловне странице на српском

и енглеском језику, идентификационе странице, структурисаног апстракта на српском и енглеском језику, скраћеница и садржаја. Дисертација се састоји из следећих основних поглавља: Увод, Хипотезе и циљеви истраживања, Материјал и методе, Резултати, Дискусија, Закључци и Литература. Сви делови дисертације, почев од наслова, дефинисања научног проблема, постављених хипотеза и циљева за њихову проверу и спроведене комплексне методологије се у потпуности поклапају са одобреним пројектом овог истраживања.

У поглављу Увод написана су основна досадашња знања о настанку каријеса, класификације и карактеристике различитих врста каријеса, имунопагатогења каријеса са посебним освртом на механизме антиоксидативне заштите и утицај слободних радикала на патогеном изазван имунски одговор. Дефинисани су терапијски приступи у санирању каријеса применом различитих денталних материјала у рестаурацији површина захваћених каријесом. За рестаурацију препарисаних апроксималних кавитета коришћени су различити материјали почев од традиционалног амалгама који заједно са *Tetric Evo Ceram Beautiful* спадају у материјале који се користе за дефинитивну рестаурацију као и материјали за привремену рестаурацију од којих су у овом истраживању коришћени Цинк Поликарбоксилатни Цемент, Цинк Фосфатни Цемент, Глас Јономер Цемент. Увод се завршава досадашњим сазнањима о активности антиоксидативних ензима у патогенези оралних обољења као и публикованим резултатима истраживања на тему оксидативни стрес и каријес. Већина спроведених студија о редокс статусу у оралној средини се заснивала на анализи саливе. Вођени чињеницом да је гингивална течност сваког појединачног зуба значајно мање експонирана системским утицајима из околине у односу на саливу и да прецизније осликава стање тврдих и меких ткива у непосредној близини, одабрали смо гингивалну течност као погодан орални субстрат за ову врсту истраживања. У овом истраживању испитивали смо утицаје денталног каријеса *per se* и примењених трајних/привремених денталних испуна на редокс статус ГТ, мерењем репрезентативних ONS маркера, као што су tSOD, TBARS и tGSH.

Постављене су и тестиране хипотезе да се вредности параметара оксидативног стреса у ГТ зуба са каријесом разликују у односу на вредности контролних здравих зуба што значи да се очекује да степен захваћености ткива каријесом утицати на вредности параметара оксидативног стреса у ГТ. Претпостављено је такође да ће у узорцима ГТ испитаника са пулпитисом (група К3) бити значајно повишене вредности про-оксидативних параметара у односу на вредности које би биле мерене код лечених зуба (група К5). Једна од ставки постављених хипотеза била је и претпоставка да ће примењени различити ресторативни материјал за привремену и трајну рестаурацију различито утицати на статус оксидативног стреса. Све ове хипотезе су провераване постављањем адекватних циљева у оквиру клиничког и експерименталног истраживања.

У поглављу Материјал и методе приказан је профил испитаника, принципи рандомизације, критеријуми за укључење и искључење у студију као и клинички критеријуми за процену ефикасности одређене врсте денталног материјала у терапији каријеса. У истраживање је било укључено 88 стоматолошких пацијенета старости 18-70 година сврстаних у шест група према врсти испуна.

У оквиру методологије експерименталних истраживања описана је метода за узорковање ГТ (гингивалне течности) као и методе мерења маркера оксидативног стреса (мерење малонилалдехида, супероксиддисмутазе, глутатиона, протеина). Параметри оксидативног стреса су одређивани у узорцима ГТ непосредно пре као и 7 и 30 дана након третмана. Као контролни узорци коришћени су узорци ГТ здравих зуба исте позиције на супротној страни вилице. Наведене су врсте и састав примењених ресторативних материјала као и услови у којима су примењивани. Врсте материјала који су коришћени за денталне испуне: Амалгам (*Etracap D caps*, Galenika, Србија), *Tetric Evo Ceram* (*Ivoclar*, Vivadent), *Beautifulfill* (Shofu, Japan), цинк фосфатни цемент (*Cegal NV*, Galenika, Србија) глас јономер цемент (*Fuji Plus*, *Green Circle*, USA). Студија је пратила апроксималну локализацију каријесних лезија на фронталним и бочним зубима. Апроксималне лезије које су захватиле глеђ и дентин, а које су видљиве у линији осмеха, од 13-23 у горњој вилици и 33-43 у доњој вилици биле су рестауриране материјалима *Tetric Evo Ceram Beautifulfill*. Апроксималне каријесне лезије које су се развиле изван линије осмеха, у регијама дистално од поменутих су биле рестауриране амалгамом. Привремени испуни били су пласирани код зуба код којих је лечење канала коренова у току, као и код зуба где је због тренутног крварења из интерденталне гингиве било немогуће пласирати дефинитивни испун. На крају методологије су приказане статистичке методе за процену разлика између испитиваних група као и процена снаге студије и величине узорка.

Резултати су подељени 3 поглавља (дистрибуција пацијената и 2 групе резултата експерименталне студије: Утицај степена каријеса као и утицај примењених денталних материјала на параметре оксидативног стреса у ГТ).

Ефекат терапије процењиван је на основу стандардних клиничких параметара према *Black*-овим класификационим критеријумима каријеса. Величина денталне лезије је одређивана индиректно, мерењем тежине материјала који је апликован као дентални испун у препарисани кавитет. Код свих пацијената су бележени клинички параметри, индекс крварења (IK), плак индекс (PI по *Silness-Lou*), гингивални индекс (GI), дубина гингивалног цепа.

Резултати су описани текстуално и поткрепљени са 3 табеле, 26 графикана и 1 шемом. Приказани резултати јасно истичу добијене ефекте и укључују нивое статистичке значајности разлика између експерименталног и контролног материјала.

Истраживањем су обухваћене четири групе зубног каријеса (4К категорије) рестаурираних са 6 типова денталних испуна и њихов утицај на оксидативни статус (tSOD, tGSH и TBARS) у ГТ. Није потврђена корелација између количине испуна и параметара оксидативног стреса. Иницијално, поређење вредности 0-тог дана између K2 - K5 група и са контролама (здрави антагонисти који су као у огледалу позиционирани зуби) указивало је на ефекат степена каријеса *per se*, на ГТ редокс статус. Нису примећене разлике, осим за K4 групу, у којој је ниво активности tGSH и tSOD била нижа у поређењу са контролним зубима. Утицај примењених ресторативних материјала, укључујући трајне (Amg и DRCs: TEC и BF), привремене испуне (ZPoC и ZPhC) и GIC на статус оксидативног стресау ГТ је процењиван током 30 дана упоређивањем вредности 7-ог и 30-

тог дана са 0-тим даном унутар К група (К2 - К5) управо зато да би се пратио тренд промена.

Повећање активности tGSH и tSOD је остварено 30-тог дана привременог пуњења у К3 групи (примењени DMs: ZpоC 40%, ZPhC 40% и GIC 20%). Уочено је да је најнижи ниво MDA остварен у К4 групи 30-тог дана.

Поредећи разлике у вредностима ОС маркера у групи здравих контролних зуба са вредностима зуба пре третмана (0-ти дан) није уочена статистички значајна разлика сем GSH и tSOD чије су активности биле ниже ($p=0,043$ у оба случаја у оквиру К4 групе у поређењу са здравим контролним зубима).

Показан је значајан утицај ресторативних материјала на параметре оксидативног стреса.

Већа активност tSOD је била код предњих у односу на задње зубе 30-тог дана.

Није уочена повезаност између тежине испуна и параметра оксидативног стреса. Значајна корелација је добијена између тежине испуна и позиције зуба. У поглављу Дискусија обухваћена су како поређења добијених налаза са објављеним резултатима из ове области, тако и критичка анализа и синтеза бројних клиничких параметара, оксидо-редукционих процеса као и обрада каријесне лезије применом различитих денталних материјала. Ни један од параметара оксидативног стреса у комбинацији са применом адекватног денталног материјала за санирање каријеса није остао необјашњен. Ту је и критички осврт на искуства других везаних за примену истих или сличних материјала, као и осврт на истраживања у којима је слива била главни медијум за истраживање. Литературни подаци су адекватно цитирани.

2.5. Научни резултати докторске дисертације

Најзначајнији резултат ове докторске дисертације је формулисан тврђењем да од примењених ресторативних материјала, ZpоC, ZPhC и BF су показали највећи антиоксидативни ефекат, насупрот GIC.

- Мерење репрезентативних параметара оксидативног стреса у узорцима гингивалне течности је указало на GT као најпоузданију и најлакше доступну оралну течност за процену редокс потенцијала зуба
- Примењене количине ресторативног материјала садржавале су дозе мономера стотина пута мање од декларисаних субтоксичних доза, тако да локални, као ни системски токсични ефекти нису остварени код испитаника који су учествовали у овој студији.
- Утврђена је повезаност оксидативног стреса са денталним лезијама GT (активност tSOD и ниво tGSH се значајно смањивао, док се липидна пероксидација повећавала).
- Статус оксидативног стреса није био у корелацији са положајем зуба.

- Уочена је позитивна корелација између масе испуна и позиције зуба, што је очекивано с обзиром на односе размера предњих и задњих зуба.
- Дентални каријес *per se* доприноси развоју оксидативног стреса у ГТ (најразвијенији у К4 групи), а липидна пероксидација је најекстензивнија у К5 групи - ендодонтски третирани зуби.
- Утицај примењених третмана на редокс баланс: У ГТ је преовладао ефекат каријеса.
- Од три мерена параметара оксидативног стреса у ГТ MDA и GSH су се показали као најпоузданији и најосетљивији параметри оксидативног стреса.
- Реакција ГТ на примењене ресторативне материјале била је минимална у К5 групама што указује на важност адекватне циркулације зуба, како за одрживост здравља зуба укључујући доток антиоксидативних елемената путем крви, тако и успешност примењених денталних материјала.

2.6. Примењивост и корисност резултата у теорији и пракси

Резултати ове студије указују на важност оксидативног стреса у каријесу. Такође, на основу вредности оксидативног стреса након терапије издвојили су се примењени дентални материјали за санирање каријеса који имају највећи антиоксидативни потенцијал. То може бити добар основ за будућа истраживања оксидативног стреса код имплантантно носених круница код којих се ретенција заснива на цементирању применом ових денталних материјала.

2.7. Начин презентовања резултата научној јавности

До сада су резултати, који су добијени у оквиру овог истраживања, публиковани у два рада објављених у међународним часописима од којих је један највеће М21 категорије. Рад везан за поређење имунолошког и оксидо-редукционог статуса у коме су примењени набројани дентални материјали је у припреми. Резултати су вредни и за приказивање на домаћим и међународним стручним и научним скуповима.

ЗАКЉУЧАК

Докторска дисертација под називом „Утицај материјала за денталне испуне апроксималних препарација на параметре оксидативног стреса у гингивалној сулкусној течности“ коју је израдио Тасо др Ервин под менторством проф. др Татјане Кањевац, ванредног професора Факултета Медицинских наука у Крагујевцу, представља оригинално научно дело. Спроведена истраживања, која су комбинација клиничке и експерименталне студије су спроведена са циљем да се прати и испита утицај степена денталног каријеса, позиције зуба, типа и количине примењеног ресторативног материјала на OS профил у ГТ, поштујући све принципе савремене методологије научних истраживања у стоматологији. Ради се о клиничко-експерименталном истраживању које је конципирано тако да се механизми ефеката примењених денталних материјала у терапији каријеса прате испитивањем статуса оксидативног стреса у гингивалној течности. Добијени резултати по први пут показују анализу примене различитих материјала за денталне испуне праћењем параметара оксидативног стреса у гингивалној течности.

Најзначајнији резултат ове докторске дисертације је да су од примењених ресторативних материјала, ZpC, ZPhC и BF показали највећи антиоксидативни ефекат, наспрот GIC.

Због тога Комисија са задовољством предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да докторска дисертација под називом „Утицај материјала за денталне испуне апроксималних препарација на параметре оксидативног стреса у гингивалној сулкусној течности“, кандидата Тасо др Ервина буде позитивно оцењена и одобрена за јавну одбрану.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

1. Проф др Марија Миловановић

Ванредни професор за ужу научну област Микробиологија и имунологија
Факултет медицинских наука, Светозара Марковића 69, Крагујевац



2. Проф др Иванка Зелен

Ванредни професор за ужу научну област Биохемија
Факултет медицинских наука, Светозара Марковића 69, Крагујевац



3. Проф др Данило Војводић

Редовни професор за ужу научну област Имунологија
Институт за медицинска истраживања, Војномедицинска академија, Црнотравска 17,
Београд

