



**УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ**  
**ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА**  
**НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ**

**1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу**

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-473/42 од 15.07.2020. године, именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата **Драгана Станишић** под називом:

**„Ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на парадонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом: улога дисбиозе“**

На основу одлуке Већа за медицинске науке, формирана је комисија у саставу:

1. **Проф. др Радмила Обрадовић**, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област *Орална медицина и парадонтологија*, председник;
2. **Проф. др Владимир Живковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. **Доц. др Тамара Николић Турнић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан.

На основу увида у приложену документацију, Комисија подноси Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу следећи

**ИЗВЕШТАЈ**

Кандидат **Драгана Станишић** испуњава све услове предвиђене Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за израду докторске дисертације.

## 2.1. Кратка биографија кандидата

Драгана Станишић је рођена 10.09.1992. године у Крушевцу. Средњу Медицинску школу, смер – зубни техничар, завршила је у Крушевцу са одличним успехом. Интегрисане академске студије стоматологија на Медицинском факултету Универзитета у Нишу уписала је школске 2011/2012. године и завршила 31.03.2017. године, са просечном оценом 9,05.

Студент је треће године Докторских академских студија на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу, које је уписала 2017 године. Усмени докторски испит положила је у 08.07.2018. године. Специјалистичке студије, смер Пародонтологија и орална медицина уписала је 2018. године.

## 2.2. Наслов, предмет и хипотезе докторске тезе

**Наслов:** „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом: улога дисбиозе“

**Предмет:** Испитивање утицаја пробиотика *Lactobacillus rhamnosus* на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом уз потенцијалну улогу дисбиозе.

### Хипотезе:

- Пробиотик (*Lactobacillus rhamnosus*) позитивно утиче као вид терапије на пародонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемijом
- Хиперхомоцистеинемijа доприноси развоју пародонтопатије
- Хиперхомоцистеинемijа доприноси развоју дисбиозе
- Дисбиоза доприноси развоју пародонтопатије
- Постоји позитивна корелација између експресије гена који посредују у процесу инфламације у пародонталном ткиву мишева
- Постоји позитивна корелација између експресије протеина који посредују у процесу инфламације у пародонталном ткиву мишева

### 2.3. Испуњеност услова за пријаву теме докторске дисертације

Кандидат, Драгана Станишић, је објавила рад у целини у часопису категорије M51, у коме је први аутор, чиме је стекла услов за пријаву теме докторске дисертације.

**Stanisic D, Obradovic R, Vujovic S, Jovanovic M, Zivkovic V.** The connection of periodontal disease and diabetes mellitus: the role of matrix metalloproteinases and oxidative stress. *Ser J Exp Clin Res.* 2019; doi: 10.2478/sjecr-2019-0051. **M51**

### 2.4. Преглед стања у подручју истраживања

Пародонтопатија је патолошки процес који захвата све делове пародонцијума. Главни етиолошки фактори пародонтопатије су пре свега анаеробни и факултативно анаеробни микроорганизми (МО) денталног плака, од којих једну од најзначајнијих улога има бактерија *Porphyromonas gingivalis*. Када МО интерагују са ћелијама имунског система као што су макрофаги и дендритске ћелије, оне продукују проинфламацијске цитокине као што су фактор некрозе тумора алфа (TNF- $\alpha$ ) и интерлеукини (IL) -1 $\beta$  и -6 који промовишу остеокластогенезу и ресорпцију костију.

Данас је познато да је један од фактора који модулира метаболизам костију и хомоцистеин (енгл. Homocysteine, Hcy). Сматра се да хиперхомоцистеинија (HHcy) утиче на ресорпцију костију повећавајући активност остеокласта (ОС) и смањујући активност остеобласта (ОБ), такође смањујући проток крви кроз кости. Могући механизам објашњава се чињеницом да HHcy стимулише синтезу IL-6, што повећава диференцијацију и развој ОС. Један од потенцијалних начина деловања HHcy на настанак пародонтопатије јесте пут матриксних металопроотеиназа (енгл. Matrix metalloproteinase, MMP). MMP су породица ванћелијских ендопептидаза способних да разграде све компоненте ванћелијског матрикса, укључујући главне компоненте пародонцијума, фибрин и колаген. Равнотежа између MMP и њихових ткивних инхибитора је значајна, јер нарушавање те равнотеже води неконтролисаној разградњи ванћелијског матрикса у различитим патолошким стањима. Процес пародонтопатије је управо један од њих. HHcy изазива каскаду реакција које узрокују ослабљену ендотелну функцију и повећану разградњу ванћелијског матрикса кроз активацију MMP. Са друге стране, серумски анти-инфламаторни цитокини TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ , IL-6 који су повишени у стању пародонтопатије

могу изазвати активност MMP. На овај начин они доводе до деструктивног процеса пародонталног ткива (уништавања везивног ткива и губитка костију).

Такође, обзиром на нивое фолата у стању ННсу, који су веома важни у дисбиози, ова два стања могу бити потенцијално повезана, стога дисбиоза индукована ННсу може бити један од узрока настанка пародонтопатије. Да дисбиоза може узроковати пародонтопатију показују и експерименталне студије. Дијета богата мастима (енгл. High Fat Diet, HFD) доказано модулира метаболизам костију и утиче на губитак алвеоларне кости активацијом антиген презентујућих ћелија и Т лимфоцита и активацијом макрофага, дендритских ћелија и неутрофила, што указује на активацију како урођеног, тако и стеченог имунског одговора. Међутим, механизам дејства ННсу, дисбиозе и пародонтопатије није у потпуности истражен.

## **2.5. Значај и циљ истраживања**

Имајући у виду значај пародонтопатије, у погледу учесталости у општој популацији као и евентуалне повезаности са другим обољењима, ово истраживање би требало да омогући додатна сазнања о могућностима лечења пробиотицима, као и повезаности хиперхомоцистеинемije и дисбиозе са пародонтопатијом.

Циљеви истраживања подразумевају:

1. Утврдити присуство пародонтопатије код свих експерименталних група
2. Испитати утицај хиперхомоцистеинемije на настанак пародонтопатије
3. Утврдити присуство дисбиозе код мишева са хиперхомоцистеинемijом и мишева храњених масном храном
4. Испитати утицај хиперхомоцистеинемije на настанак цревне дисбиозе
5. Испитати утицај цревне дисбиозе на настанак пародонтопатије
6. Испитати експресију гена и протеина који посредују у процесу инфламације у пародонталном ткиву мишева

## 2.6. Веза истраживања са досадашњим истраживањима

Као последица повећања броја грам негативних бактерија, како у цревима тако и у усној дупљи, активира се имунски систем преко сигналног LPS/TLR4 трансдукционог пута. Липополисахарид (енгл. Lipopolysaccharide, LPS) је кључна молекуларна структура у настанку пародонтопатије. Ћелије стеченог имунитета идентификују ове структуре помоћу рецептора сличних толу (енгл. Toll-like receptor, TLR) чија активација доводи до транскрипције гена унутар ћелија и производње инфламаторних цитокина. Услед појачане продукције цитокина, моноцити бивају диференцирани у прекурсоре ОС. Прекурсори ОС под утицајем цитокина, појачано експримирају рецепторе активације нуклеарног фактора капа-б (енгл. Receptor activator of nuclear factor kappa-B, RANK) и везују се за лиганде овог рецептора (енгл. Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) на мембрани ОБ што за последицу има смањење продукције коштаног протективног фактора остеопротегерина (OPG), појачану активацију остеокласта и настанак остеокластогенезе.

Током последње деценије, нове терапије које укључују одговор домаћина у модулацији пародонталне болести су терапије пробиотицима. Имуномодулаторно дејство пробиотских бактерија варира у зависности од тога ком соју и врсти припадају, као и од саме врсте препарата. Утицај пробиотских бактерија је добро утврђен за одређене гастроинтестиналне болести, а недавне публикације показале су значајан потенцијал за терапијску употребу против оралних инфекција. *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus salivarius* VB21 и *Lactobacillus rhamnosus* су једне од потенцијално најважнијих пробиотских врста у терапији пародонтопатије. Клиничке студије испитивале су дејство *Lactobacillus reuteri* и *Lactobacillus salivarius* VB21 у терапији гингивитиса и пародонтопатије. Резултати су показали смањен индекс крварења при сондирању, смањење индекса плака и укупне количине пародонталних бактерија. Међутим дејство *Lactobacillus rhamnosus*-а у терапији пародонтопатије још увек није довољно истражено.

Поред антимикробне активности, пробиотици би могли додатно модулирати одговор домаћина, користити се као помоћна средства уз већ постојећу конвенционалну терапију или као монотерапија у случају немогућности каузалне терапије пародонтопатије. Из тог разлога, потребне су додатне студије како би се испитао ефекат различитих врста пробиотика на стање пародонталних ткива.

## 2.7. Методе истраживања

### 2.7.1. Врста студије

Експериментална студија на животињама *in vivo*.

### 2.7.2. Популација која се истражује

У експерименталној студији ће бити коришћени мишеви WT (C57BL/6J) и хетерозиготи *knock-out* CBS<sup>+/-</sup> (B6.129P2-Cbstm1Unc/J 002853) соја, мушког пола (n=48), старости 8 недеља који су претходно купљени од лабораторије Џексон (Бар Харбор, МЕ, САД) (*Jackson Laboratory; Bar Harbor, ME, USA*). Поступци на животињама прегледани су и након тога одобрени од стране Институционалног одбора за негу и употребу животиња (*Institutional Animal Care and Use Committee - IACUC*) Универзитета у Лујвилу, Кенктаки, САД. У даљем раду са животињама биће поштоване смернице Националног завода за здравство Сједињених Америчких Држава (*National Institutes of Health – NIH*). Животиње ће имати приступ води и храни *ad libitum*. Експерименталне животиње ће бити чуване према прописаним узгојним условима (температура 25°C, циклус светлост:тама 12:12 часова).

### 2.7.3. Узорковање

Животиње ће бити разврстане у осам група:

1. WT мишеви
2. WT мишеви који ће бити третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) пероорално у дози од  $2.5 \times 10^5$  CFU
3. WT мишеви којима ће бити индукована пародонтопатија LPS-ом
4. WT мишеви којима ће бити индукована пародонтопатија LPS-ом и који ће бити третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) пероорално у дози од  $2.5 \times 10^5$  CFU
5. CBS<sup>+/-</sup> мишеви
6. CBS<sup>+/-</sup> мишеви који ће бити третирани пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus*) пероорално у дози од  $2.5 \times 10^5$  CFU
7. WT мишеви који ће бити храњени специјалном храном богатом мастима

8. WT мишеви који ће бити храњени специјалном храном богатом мастима и који ће бити третирани пробиотцима (*Lactobacillus rhamnosus*) пероорално у дози од  $2.5 \times 10^5$  CFU

#### 2.7.4. Варијабле

**Независне варијабле:** пародонтопатија, дисбиоза црева

**Зависне варијабле:** патохистолошка анализа пародонтопатије, вредности MMP и параметара инфламације, експресија гена и протеина релевантних цитокина

**Збуњујуће варијабле:** утицај терапијске процедуре (пробиотика)

#### Генотипизација

Узорци репа мишева биће сакупљени и након тога биће изведене генотипске анализе коришћењем ланчане реакције полимеразом (PCR) према препорукама лабораторије Џексон (Бар Харбор, МЕ, САД) (*Jackson Laboratory; Bar Harbor, ME, USA*). Узорци хетерозиготних CBS<sup>+/-</sup> мишева на гелу експримираће траке на нивоу 450 и 308 bp, док ће узорци мишева дивљег типа (CBS<sup>+/+</sup>) експримирати једну траку на вредности 308 bp.

#### Индукција пародонтопатије

Мишеви ће бити анестезирани интраперитонеалним убризгавањем следеће комбинације анестетика: кетамин (енгл. *Ketamine* 80 mg/kg) и ксилазин (енгл. *Xylazine*; 10 mg/kg). Након анестезирања, мишеви ће бити фиксирани на постоље за интервенције како би се индуковала пародонтопатија интрагингивалним убризгавањем 2  $\mu$ l (20  $\mu$ g) *Porphyromonas gingivalis*-LPS (*InvivoGen, San Diego, CA, USA*) у пределу интерденталне папиле између првог и другог мандибуларног молара, два пута недељно, у периоду од 6 недеља.

#### Индукција цревне дисбиозе

У циљу индуковања цревне дисбиозе, мишеви ће бити храњени специјалном храном богатом мастима (*TD.88137; Harlan Laboratories Inc., Indianapolis, IN, USA*) у периоду од 12 недеља.

### **Примена пробиотика**

У циљу терапијске процедуре пародонтопатије, користиће се пробиотик *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC® 53103). Пробиотик ће се давати пероорално, у дози од  $2.5 \times 10^5$  CFU у периоду од 12 недеља.

### **Жртвовање животиња и сакупљање узорака крви**

Пре жртвовања животиња, биће сакупљен фецес за микробиолошку анализу и верификацију дизбиозе црева. Животиње ће бити жртвоване методом цервикалне дислокације. Након жртвовања животиња, предвиђена је изолација мандибуле за даљу анализу. Крв ће бити сакупљена након жртвовања, пункцијом абдоминалне аорте. Након коагулације 30 минута на собној температури, серум ће се изоловати центрифугирањем (20 минута на 3000 rpm) и замрзнути на  $-80^{\circ}\text{C}$  за даљу анализу.

### **Микробиолошка анализа фецеса**

Узорци фецеса биће узети 24h пре жртвовања животиња и након тога ће бити анализирани у компанији *Microbiome Insights Inc. Attention: Malcolm Kendall; Vancouver, BC V6R 4K6; Canada*. Предвиђене су следеће анализе ради детекције дисбиозе црева: екстракција и секвенционирање ДНК, и припрема узорака према већ постојећој бази података (*DNA Extraction + Library preparation and sequencing on the Illumina Next Seq (2X 150 BP)*).

### **Анализа концентрације хомоцистеина**

Концентрација хомоцистеина биће измерена ELISA методом према утврђеном протоколу произвођача, из серума мишева.

### **Хистолошке и морфометријске анализе**

Након жртвовања животиња, патохистолошким анализом анализираће се стање пародонталног ткива. Хистоморфометријска анализа региона између првог и другог мандибуларног молара обухвата следеће параметре: апикалну миграцију епитела (пад епитела), ресорпцију алвеоларне кости, број полиморфонуклеарних неутрофила, фибробласта и остеокласта, као и инфламацијску ћелијску инфилтрацију, интегритет алвеоларне кости и цемента. Узорци ће се анализирани на следећи начин: 0 -



инфилтрација инфламацијских ћелија одсутна или је ретка (ограничена на регион маргиналне гингиве, алвеоларна кост и цемент су очувани); 1 - умерена ћелијска инфилтрација (инфламацијска ћелијска инфилтрација присутна у целокупном гингивалном ткиву, почетна алвеоларна ресорпција и интактан цемент зуба); 2 - наглашена ћелијска инфилтрација (инфламацијска ћелијска инфилтрација присутана у гингиви и периодонталном лигаменту, наглашена ресорпција алвеоларне кости и делимична ресорпција цемента); 3 - наглашена ћелијска инфилтрација, потпуна ресорпција алвеоларне кости и цемента зуба. Пад епитела је дефинисан мерењем удаљености од цементно глеђне границе (енгл. *cemento enamel junction*, CEJ) до припојног епитела док ће ресорпција алвеоларне кости бити мерена као удаљеност између CEJ и алвеоларног коштаног гребена (енгл. *alveolar bone crest*, ABC). Мерења ће бити поновљена 3 пута по месту, а резултати ће бити представљени као растојања у  $\mu\text{m}$ . Сlike ће бити снимљене при увећању 20X (200  $\mu\text{m}$ ) и 60X (50  $\mu\text{m}$ ) и анализирани помоћу система за анализу слика (*ImageJ 1.36*). За хистоморфометријску анализу инфламаторних ћелија биће анализирано десет поља димензија 45 x 50  $\mu\text{m}$  из сваког интерденталног подручја, између првог и другог мандибуларног молара. У сваком од подручја која су од интереса, укупан број ћелија (полиморфонуклеарни неутрофили, фибробласти и остеокласти) ће се бројити ручно из слика снимљених при 60-пута увећању на хистолошким препаратима обојеним Н&Е и TRAP. Фибробласти, полиморфонуклеарни неутрофили и остеокласти ће бити идентификовани на основу морфолошких карактеристика ћелија. Подаци ће тада бити пријављени као број сваке врсте ћелија по пољу.

#### **Желатинске гел-зимографије - анализа активности матриксних металопроотеиназа**

Активности MMP-а мериће се употребом желатинске гел-зимографије. Јасно дигестиране области представљаће MMP активност, којима се приступа помоћу покретања претходно обојених маркера молекулске тежине које су квантификоване дензитометријски коришћењем *Un-Scan-It* софтвера (*Silk Scientific Inc., Orem, UT*).

#### **Вестерн блот анализа експресије протеина**

Мандибуле ће бити хомогенизоване и лизирани у радиоимунопреципитацијском пуферу за лизу (*RIPA*) допуњен коктемом инхибитора протеазе, фенилметансулфонилфлуоридом

(PMSF) и натријум-ортованадатом. Затим ће се лизати центрифугирати на 5900 обртаја током 10 минута, након чега ће се изоловати преципити (протеини). Концентрације протеина одређиваће се тестом процене протеина Брадфорд да би се обезбедила једнака концентрација протеина. Након тога, узорци ће бити анализирани Вестерн блот анализом. Интензитет опсега анализираће се коришћењем *BioRad ImageLab* софтвера. Сви протеини од интереса: IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL- 10, RANKL, OPG, TIMP-1 ће се нормализовати у односу на вредности GAPDH.

### **Квантитативна реакција ланчане полимеризације у реалном времену (*Quantitative Real-time PCR, qRtPCR*)**

Мандибуле ће бити хомогенизоване, а након хомогенизације приступиће се изолацији укупне RNA из узорка применом реагенса према протоколу произвођача. Од 1 $\mu$ g укупне RNA синтетисаће се коплементарна cDNA применом одговарајућих китова према упутствима произвођача у укупној запремини од 20  $\mu$ l. 5  $\mu$ l реакционе смеше биће инкубирано са “PCR master mix” који садржи дволанчану боју за DNA у укупној запремини од 50 $\mu$ l. Након тога ће се употребити прајмери (IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IL- 10, RANKL, OPG, MMP-2, MMP-9, TIMP-1) за qRtPCR Подаци ће бити нормализовани према вредностима експресије GAPDH.

### **2.7.5. Снага студије и величина узорка**

Величина узорка израчуната је на основу података о вредностима MMP у гингивалном ткиву контролне групе и групе са пародонтопатијом изазваном LPS-ом, у студији сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа ( $\alpha$ ) од 0,05 и снагу студије од 0,8 за Студент Т тест (два независна узорка), упоређујући групе између себе (у оба смера), према статистичком програму *G\*Power v3.1*. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између експерименталних и контролних група, утврђен је број експерименталних животиња по групи и он износи пет.

Имајући у виду могућност искључења неких експерименталних животиња из завршне анализе (индивидуална резистенција мишева на индуковање пародонтопатије, осетљивост хетерозиготних CBS<sup>+/-</sup> мишева итд), укупан студијски узорак је утврђен на 48

експерименталних животиња (по шест животиња у свакој групи). Овакав узорак студије претпоставља утврђивање статистички значајне разлике (Студент Т тест за два независна узорка) између две испитиване групе, са снагом студије  $\geq 80\%$ .

#### **2.7.6. Статистичка обрада података**

Подаци ће бити анализирани коришћењем програма *GraphPad Prism* верзија 8.0.2. Пре статистичке обраде података, прво биће испитано да ли добијене вредности имају нормалну расподелу (величина узорка одређује који ћемо тест користити за ту проверу). Ако је број анализираних вредности већи од 50 користимо *Kolmogorov-Smirnov* тест, а уколико је мањи од 50 за проверу користимо *Shapiro-Wilk* тест. Уколико вредности имају нормалну расподелу користе се параметарски Студент Т тест, док у случају када вредности немају нормалну расподелу биће коришћен непараметарски *Mann-Whitney*-ев тест. Резултати експеримента биће изражени као средња вредност  $\pm$  стандардна девијација (енгл. *Standard Deviation*, SD). За статистички значајну разлику у добијеним вредностима између група сматраће се када је  $p < 0.05$ , док је статистички веома значајна разлика када је  $p < 0.01$ .

#### **2.8. Очекивани резултати докторске дисертације**

Очекују се позитивни ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на пародонтопатију код мишева са хиперхомуцистеинемijом у смислу побољшања стања пародонталног ткива, смањења апикалне миграције епитела, ресорпције алвеоларне кости, броја полиморфонуклеарних неутрофила, фибробласта и остеокласта, као и смањење свеукупне инфламацијске ћелијске инфилтрације, интегритета алвеоларне кости и цемента. Такође, очекује се да дисбиоза и хиперхомуцистеинемija олакшавају настанак пародонтопатије погоршањем поменутих параметара док хиперхомуцистеинемija, као генетски поремећај, индукује дисбиозу.

#### **2.9. Оквирни садржај докторске дисертације**

Узевши у обзир честу заступљеност пародонталне болести, код којих постоје разлике у степену ресорпције кости, презентацији клиничке слике и успешности лечења, значај

студије се огледа у утицају нове терапијске процедуре (пробиотика *Lactobacillus rhamnosus*), начина исхране, нивоа хомоцистеина, дисбиозе на пародонтопатију. Поред антимикробне активности, пробиотици би могли додатно модулирати одговор домаћина, користити се као помоћна средства уз каузалну терапију или као монотерапија у случају немогућности каузалне терапије пародонтопатије.

### 3. Предлог ментора

За коменторе ове докторске дисертације предлажу се доц. др Невена Јерemiћ, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Фармацеутска хемија и проф. др Suresh Tyagi, професор Медицинског факултета Универзитета у Лујвилу, Кентаки, Сједињене Америчке Државе (*University of Louisville School of Medicine, Louisville, Kentucky, United States of America*) за ужу научну област Физиологија и биофизика.

Доц. др Невена Јерemiћ и проф. др Suresh Tyagi поседују стручне и научне компетенције које су комплементарне са предметом истраживања и испуњавају услове за ментора докторских дисертација у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

#### 3.1 Компетентност ментора

Радови доц. др Невене Јерemiћ који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Jeremic J, Nikolic Turnic T, Zivkovic V, **Jeremic N**, Milosavljevic I, Srejovic I, Obrenovic R, Jancic S, Rakocevic M, Matic S, Djuric D, Jakovljevic V. Vitamin B complex mitigates cardiac dysfunction in high-methionine diet-induced hyperhomocysteinemia. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2018. doi: 10.1111/1440-1681.12930.
2. **Jeremic N**, Weber GJ, Tyagi SC. Ablation of toll-like receptor 4 mitigates cardiac mitochondrial dysfunction in hyperhomocysteinemia. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017; 95(11): 1369-1375.

3. **Jeremic N**, Weber GJ, Familtseva A, Metreveli N, Tyagi SC. Ablation of Toll-like receptor 4 mitigates central blood pressure response during hyperhomocysteinemia. *J Hypertens*. 2017; 35(11): 2226-2237.
4. Familtseva A, **Jeremic N**, Kunkel GH, Tyagi SC. Toll-like receptor 4 mediates vascular remodeling in hyperhomocysteinemia. *Mol Cell Biochem*. 2017; 433(1-2): 177-194.
5. Stojic I, Srejavic I, Zivkovic V, **Jeremic N**, Djuric M, Stevanovic A, Milanovic T, Djuric D, Jakovljevic V. The effects of verapamil and its combinations with glutamate and glycine on cardiodynamics, coronary flow and oxidative stress in isolated rat heart. *J Physiol Biochem*. 2017; 73(1): 141-153.

Радови проф. др Suresh Tyagi-ја који су у вези са темом докторске дисертације:

1. Winchester LJ, Veeranki S, Pushpakumar S, **Tyagi SC**. Exercise mitigates the effects of hyperhomocysteinemia on adverse muscle remodeling. *Physiol Rep*. 2018; 6(6): e13637.
2. Pushpakumar S, Ren L, Kundu S, Gamon A, **Tyagi SC**, Sen U. Toll-like Receptor 4 Deficiency Reduces Oxidative Stress and Macrophage Mediated Inflammation in Hypertensive Kidney. *Sci Rep*. 2017; 7(1): 6349.
3. **Jeremic N**, Weber GJ, Tyagi SC. Ablation of toll-like receptor 4 mitigates cardiac mitochondrial dysfunction in hyperhomocysteinemia. *Can J Physiol Pharmacol*. 2017; 95(11): 1369-1375.
4. Weber GJ, Pushpakumar S, **Tyagi SC**, Sen U. Homocysteine and hydrogen sulfide in epigenetic, metabolic and microbiota related renovascular hypertension. *Pharmacol Res*. 2016; 113(Pt A): 300-312.
5. Kalani A, Chaturvedi P, Kamat PK, Maldonado C, Bauer P, Joshua IG, **Tyagi SC**, Tyagi N. Curcumin-loaded embryonic stem cell exosomes restored neurovascular unit following ischemia-reperfusion injury. *Int J Biochem Cell Biol*. 2016; 79: 360-369.

#### **4. Научна област дисертације**

Медицина. Изборно подручје: Истраживања у стоматологији

## 5. Научна област чланова комисије

1. Проф. др Радмила Обрадовић, ванредни професор Медицинског факултета Универзитета у Нишу за ужу научну област *Орална медицина и парадонтологија*, председник;
2. Проф. др Владимир Живковић, ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан;
3. Доц. др Тамара Николић Турнић, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан.

#### 4. ЗАКЉУЧАК И ПРЕДЛОГ КОМИСИЈЕ

На основу досадашњег научно-истраживачког рада кандидат, Драгана Станишић, испуњава све услове за одобрење теме и израду докторске дисертације. Предложена тема је научно оправдана и оригинална, дизајн истраживања прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија јасна и прецизна.

Комисија предлаже Научно-наставном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидата Драгане Станишић, под називом „Ефекти пробиотика (*Lactobacillus rhamnosus*) на парадонтопатију код мишева са хиперхомоцистеинемијом: улога дисбиозе“ и одобри њену израду.

#### ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ

**Проф. др Радмила Обрадовић**, ванредни професор Медицинског факултета  
Универзитета у Нишу за ужу научну област *Орална медицина и парадонтологија*,  
председник



---

**Проф. др Владимир Живковић**, ванредни професор Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Физиологија*, члан



---

**Доц. др Тамара Николић Турнић**, доцент Факултета медицинских наука  
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област *Клиничка фармација*, члан



---

У Крагујевцу, 19.07.2020. године