

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
НАСТАВНО-НАУЧНОМ ВЕЋУ

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА
У КРАГУЈЕВЦУ

ПР/Мед.Б.1/10	31. 03. 2023	Сектор
05	2873	

1. Одлука Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу

Одлуком Већа за медицинске науке Универзитета у Крагујевцу, број IV-03-172/34 од 21.03.2023. године именовани су чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Мирјане Папић под називом:

„Утицај сојних разлика Dark Agouti и Albino Oxford пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе“

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

- 1. доц. др Раша Младеновић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Превентивна и дечја стоматологија, председник;
- 2. проф. др Ирена Танасковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;
- 3. доц. др Милица Гајић**, доцент Стоматолошког факултета у Панчеву Универзитета Привредна академија у Новом Саду за ужу научну област Клиничка стоматологија, члан.

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

2. Извештај комисије о оцени научне заснованости теме докторске дисертације

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

2.1. Научни приступ проблему предложеног нацрта докторске дисертације

Генетичка варијабилност различитих сојева глодара који се користе у експерименталним студијама, може одразити генетички диверзитет који постоји у људској популацији. Животињски модели болести су добар начин испитивања генских

предиспозиција јер је познато да генска подлога различитих сојева животиња утиче на патогенезу болести услед наслеђених разлика у поларизацији специфичног имунског одговора. Резултати скорије публикованих студија су показали да постоји генска предиспозиција без јасних генетских детерминанти за развој инфекције *C. albicans*. Најчешће се за експерименталне моделе оралне кандидијазе користе тзв. „аутбредни” сојеви, Sprague-Dawley (SD) и Wistar Albino (WA). Истраживања о поларизацији имунског одговора „аутбредних” сојева на оралну кандидијазу нису спроведена, али је показано на моделима плућне инфекције *C. albicans* да се имунски одговор поларизује ка Th1/Th17. За разлику од њих, тзв. „инбредни“ сојеви поседују познате генске детерминанте на основу којих се може очекивати различит имунски одговор. Тако је познато да Dark Agouti (DA) сој доминантно одговара Th1/Th17 типом целуларне имуности, док у Albino Oxford (AO) соју доминира Th2 имунска реакција. С тога је у моделу плућне гљивичне инфекције изазване *Aspergillus fumigatus*, показана тежа клиничка слика у AO соју заједно са доминантнијом продукцијом IL-10. Међутим, неочекивано, код AO пацова показана је и повећана продукција IL-17, која је била већа него код DA соја. Истраживања експерименталних модела оралне кандидијазе, као и разлике у имунском одговору DA и AO соја пацова до сада нису у потпуности испитане и разјашњене.

2.2. Процена научног доприноса крајњег исхода рада

Анализа генетичких варијација међу сојевима и њихов утицај на одговор у присуству инфективног агенса могла би бити корисна не само за разјашњавање генетске основе отпорности/подложности домаћина на развој оралне кандидијазе, већ и за откривање механизма имунског одговора на оралну кандидијазу.

2.3. Наслов, циљ(еви) и хипотеза(е) докторске дисертације

Наслов:

Утицај сојних разлика Dark Agouti и Albino Oxford пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе

Циљ:

Испитивање сојних разлика Dark Agouti (DA) и Albino Oxford (AO) пацова у индукцији, прогресији и типу имунског одговора на оралну кандидијазу изазвану различитим експерименталним моделима.

У складу са основним циљем истраживања дефинисани су следећи експериментални задаци:

- 1) Дефинисати и квантификовати степен оштећења епитела код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 2) Дефинисати и квантификовати инфламаторне промене у оралној слузници хистолошким бојењима код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 3) Дефинисати и квантификовати степен колонизације епитела *C.albicans* у оралној слузници селективним хистолошким бојењима код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 4) Испитати фенотипске карактеристике ћелија које посредују у инфламацији оралне слузнице имунохистохемијским бојењима код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 5) Испитати експресију гена за цитокине који посредују у процесу инфламације: IL-1 β , IL-6, IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-10, IL-17, TGF- β код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 6) Испитати концентрације цитокина TNF- α , IL-6, и IL-10 у лизату ткива језика код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе
- 7) Утврдити концентрацију параметара оксидационог стреса (индекса липидне пероксидације (TBARS), азот монооксида NO- (у облику нитрита), супероксид анион радикала (O 2^-), водоник пероксида (H 2 O 2), каталазе (CAT), супероксид-дизмутазе (SOD) и редукованог глутатиона (GSH)) код DA и AO пацова у различитим моделима оралне кандидијазе

Хипотеза:

Постоји разлика у карактеристикама обољења и у имунском одговору на оралну кандидијазу између Dark Agouti (DA) и Albino Oxford (AO) сојева пацова.

Уочене разлике могу бити последица:

- Различитих степена оштећења епитела у оралној слузници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.
- Величине и састава мононуклеарних инфилтрата у оралној слузници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.

- Различитих степена колонизације епитела *C.albicans* у оралној слузници DA и AO пацова као одговор на оралну кандидијазу.
- Разлике у експресији релевантних цитокина (IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-6, IL-10, IL-17, TGF- β) код DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.
- Разлике у концентрацији цитокина TNF- α , IL-6, и IL-10 у лизату ткива језика код DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.
- Различитих концентрација параметара оксидативног стреса у системској циркулацији DA и AO пацова у моделима оралне кандидијазе.

2.4. Методе истраживања

2.4.1. Врста студије

Тип студије према коме ће бити спроведено истраживање је експериментална студија на животињама *in vivo*.

2.4.2. Популација која се истражује

У експерименталној студији ће бити коришћени пацови DA и AO соја мушког пола (n=70; DA=35 и AO=35), старости 8 недеља добијени из одгајалишта за пацове Института за биолошка истраживања, Београд. Све животиње биће одгајане под стандардним условима у виваријуму Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу, уз приступ води и храни *ad libitum*. Експерименталне животиње ће бити чуване према прописаним узгојним условима (температура 25°C, циклус светлост:тама 12:12 часова). Све планиране процедуре су одобрене од стране Етичке комисије за заштиту добробити огледних животиња, факултета Медицинских наука Универзитета у Крагујевцу (бр протокола: 01-7677, одобрење бр: 01-7993).

2.4.3. Узорковање

Животиње ће се према соју и експерименталном моделу сврстати у осам група:

1. DA пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза (n=10)
2. DA пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза са применом тетрациклина (n=10)
3. DA пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза са применом дексаметазона и тетрациклина (n=10)
4. AO пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза (n=10)

5. АО пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза са применом тетрациклина (n=10)
6. АО пацови којима ће бити индукована орална кандидијаза са применом дексаметазона и тетрациклина (n=10)
7. Здрави DA пацови којима неће бити индукована орална кандидијаза (n=5)
8. Здрави АО пацови којима неће бити индукована орална кандидијаза (n=5)

2.4.4. Варијабле које се мере у студији

Независне варијабле:

- DA и АО сојеви пацова са оралном кандидијазом
- Примењени експериментални модел

Зависне варијабле:

- Оцена степена оштећења епитела
- Интензитет запаљенске инфилтрације
- Оцена степена колонизације епитела *C.albicans*
- Промене у фенотипу имунских ћелија
- Експресија релевантних цитокина
- Ниво цитокина у лизату ткива језика
- Параметри оксидативног стреса

2.4.5. Снага студије и величина узорка

Величина узорка израчуната је на основу података о вредностима односа IL-17/IL-4 између DA и АО сојева пацова у студији сличног дизајна. Студијски узорак је израчунат узимајући алфа (α) од 0.05 и снагу студије од 0.80 за T -тест (два независна узорка), упоређујући групе између себе (у оба смера), према статистичком програму G*Power 3. На основу претпоставке која захтева највећи узорак, односно очекиване најмање разлике у испитиваним параметрима између група, утврђен је број пацова према групама и он износи 5 за сваку од група. За потребе овог истраживања биће укључене шест група од по 10 пацова и две од по 5, укупно 70 пацова.

2.4.6. Статичка анализа

Подаци ће бити анализирани коришћењем статистичког програма SPSS верзија 23. Прво ће бити испитано да ли добијене вредности имају нормалну расподелу. Ако је број анализираних вредности већи од 50 користићемо Kolmogorov-Smirnov тест, а уколико је мањи од 50 за проверу користићемо Shapiro-Wilk тест. У зависности од нормалности расподеле коришћени су Kruskal-Wallis H и Mann-Whitney U тестови (непараметарски) или One-Way ANOVA и Independent Samples T-тест (параметарски). Резултати експеримента биће изражени као средња вредност \pm стандардна грешка (енг. Standard Error, SE). За статистички значајну разлику у добијеним вредностима између група сматраће се када је $p < 0,05$, док је статистички веома значајна разлика када је $p < 0,01$.

2.5. Значај истраживања за развој науке

Орална кандидијаза је обољење које погађа велики број имунодефицијентних пацијената као и старих особа са различитом клиничком сликом. Узевши у обзир честу заступљеност оралне кандидијазе код којих постоје разлике у клиничкој слици и одговору на терапију, значај студије се огледа у расветљавању патогенетских механизма условљеним сојним разликама.

Анализа генетичких варијација међу сојевима и њихов утицај на одговор у присуству инфективног агенса могла би бити корисна не само за разјашњавање генетске основе отпорности/подложности домаћина, већ и за откривање механизма имунолошког одговора.

2.6. Образложење теме докторске дисертације и оригиналност идеје

Тема докторске дисертација и планирано истраживање су оригинални јер досадашња истраживања се нису бавила расветљавањем генетске основе отпорности/подложности домаћина на развој оралне кандидијазе.

2.7. Кратка биографија и научно-истраживачки рад кандидата

Мирјана Папић, рођена је 29.12.1990. године у Крагујевцу, Република Србија. Основну и средњу школу завршила је у Крагујевцу. Факултет медицинских наука у Крагујевцу уписала је школске 2010/2011. године, а дана 27.06.2015. године завршила је Интегрисане академске студије стоматологије са просечном оценом 9,32 и стекла звање доктор стоматологије. Након завршених студија обавила је обавезан приправнички стаж и положила стручни испит. Од 2016. године добитник је стипендије Министарства просвете, науке и технолошког развоја Републике Србије за докторске академске студије. Докторске академске студије на Факултету медицинских наука у Крагујевцу

уписала је школске 2015/2016. године. Тренутно је студент треће године са положеним усменим докторским испитом и просечном оценом 8,50, изборно подручје Истраживања у стоматологији. Специјалистичке студије из гране медицине Превентивна и дечја стоматологија уписала је 01.12.2017. године, а завршила је 09.02.2023. године са одличним успехом. Од новембра 2016. године запослена је као сарадник у настави, а од марта 2022. године као истраживач приправник за ужу научну област Превентивна и дечја стоматологија на Интегрисаним академским студијама стоматологије на Факултету медицинских наука, Универзитета у Крагујевцу.

Кандидаткиња је као први аутор објавила један рад у целини у часопису категорије М23 на једном од водећих светских језика, чиме је испунила услов за пријаву докторске дисертације:

1. **Раріс М**, Раріс М, Zivanovic S, Vuletic M, Zdravkovic D, Mistic A, Miletic Kovacevic M, Popovic M. The prevalence of oval-shaped root canals: A morphometric study using cone-beam computed tomography and image analysis software. Aust Endod J. 2022;48:158–69. **M23**

3. Предлог ментора

За ментора се предлаже доц. др **Марина Милетић Ковачевић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија.

Доц. др Марина Милетић Ковачевић испуњава све услове за ментора докторске дисертације у складу са стандардом 9. за акредитацију студијских програма докторских академских студија на високошколским установама.

Доц. др Марина Милетић Ковачевић поседује стручне и научна квалификације у складу са предметом истраживања и планираним методолошким приступом.

3.1. Компетентност ментора

Радови доц. др Марина Милетић Ковачевић:

1. **Kovacevic MM**, Pejnovic N, Mitrovic S, Jovicic N, Petrovic I, Arsenijevic N, Lukic ML, Ljubic B. Galectin-3 deficiency enhances type 2 immune cell-mediated myocarditis in mice. Immunol Res. 2018;66(4):491-502.
2. Juskovic A, Nikolic M, Ljubic B, Matic A, Zivkovic V, Vucicevic K, Milosavljevic Z, Vojinovic R, Jovicic N, Zivanovic S, Milivojevic N, Jakovljevic V, Bolevich S, **Miletic Kovacevic M**. Effects of Combined Allogenic Adipose Stem Cells and Hyperbaric

Oxygenation Treatment on Pathogenesis of Osteoarthritis in Knee Joint Induced by Monoiodoacetate. *Int J Mol Sci.* 2022;23(14):7695.

3. Postolović KS, Antonijević MD, Ljujić B, **Miletić Kovačević M**, Gazdić Janković M, Stanić ZD. pH-Responsive Hydrogel Beads Based on Alginate, κ-Carrageenan and Poloxamer for Enhanced Curcumin, Natural Bioactive Compound, Encapsulation and Controlled Release Efficiency. *Molecules.* 2022;27(13):4045.

4. Papic M, Papic M, Zivanovic S, Vuletic M, Zdravkovic D, Misic A, **Miletić Kovacevic M**, Popovic M. The prevalence of oval-shaped root canals: A morphometric study using cone-beam computed tomography and image analysis software. *Aust Endod J.* 2022;48(1):158-169.

5. Zivanovic S, Papic M, Vucicevic T, **Miletić Kovacevic M**, Jovicic N, Nikolic N, Milasin J, Paunovic V, Trajkovic V, Mitrovic S, Lukic ML, Lukic A, Ljujić B. Periapical lesions in two inbred strains of rats differing in immunological reactivity. *Int Endod J.* 2022;55(1):64-78.

4. Научна област дисертације

Научна област: Медицина. Изборно подручје: Истраживања у стоматологији

5. Научна област чланова комисије

1. доц. др **Раша Младеновић**, доцент Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Превентивна и дечја стоматологија, председник;
2. проф. др **Ирена Танасковић**, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;
3. доц. др **Милица Гајић**, доцент Стоматолошког факултета у Панчеву Универзитета Привредна академија у Новом Саду за ужу научну област Клиничка стоматологија, члан.

Сви предложени чланови комисије за оцену научне заснованости теме докторске дисертације кандидата Мирјане Папић имају стручне и научне компетенције подударне са предметом истраживања.

Закључак и предлог комисије

На основу увида у резултате досадашње научно-истраживачке активности и публиковане радове, Комисија закључује да кандидат, Мирјана Папић испуњава све услове прописане Законом о високом образовању и Статутом Факултета медицинских наука да приступи изради докторске дисертације.

Комисија је утврдила да се ради о оригиналном научном делу које има за циљ да испита сојне разлике **Dark Agouti (DA)** и **Albino Oxford (AO)** пацова у индукцији, прогресији и типу имунског одговора на оралну кандидијазу изазвану различитим експерименталним моделима. Предложена тема је научно оправдана, дизајн истраживања је прецизно постављен и дефинисан, а научна методологија је јасна.

Комисија предлаже Наставно-научном већу Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу да прихвати тему докторске дисертације кандидаткиње др Мирјане Папић под називом: „**Утицај сојних разлика **Dark Agouti** и **Albino Oxford** пацова на патогенезу експерименталних модела оралне кандидијазе**“ и одобри њену израду.

ЧЛАНОВИ КОМИСИЈЕ:

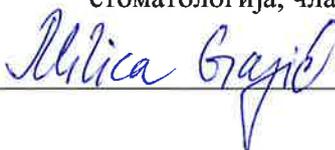
1. **Доц. др Раша Младеновић**, доцент Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Превентивна и дечја стоматологија,
председник;



2. **Проф. др Ирена Танасковић**, редовни професор Факултета медицинских наука
Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Хистологија и ембриологија, члан;



3. **Доц. др Милица Гајић**, доцент Стоматолошког факултета у Панчеву
Универзитета Привредна академија у Новом Саду за ужу научну област Клиничка
стоматологија, члан.



У Крагујевцу, МАРТ 2023. године